



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ»

Διπλωματική Εργασία

«ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

ΤΡΕΧΟΥΣΑ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ-ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ»

Μαρία Ε. Βενιζέλου

Επιβλέπουσα: Μαρία Γαζούλη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής
Βιολογίας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

Αθήνα
2018

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Γαζούλη Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ**)

Κουτσιλιέρης Μιχάλης, Καθηγητής Φυσιολογίας Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Ευσταθόπουλος Ευστάθιος, Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής και Ακτινοφυσικής, Β' Εργαστήριο Ακτινολογίας Ιατρικής Σχολής, Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	6
Περίληψη	8
Abstract.....	10
Λεξικό Συντμήσεων.....	11
Ιστορική αναδρομή.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ	15
1.1 Εισαγωγή στη Νανοτεχνολογία	15
1.2 Εφαρμογές της Νανοτεχνολογίας.....	16
1.3 Νανοσωματίδια (Nanoparticles, NPs).....	18
1.3.1 Κατηγοριοποίηση Νανοσωματιδίων (NPs)	19
1.3.2 Τύποι Νανοσωματιδίων (NPs) με εφαρμογές στην Ιατρική	20
1.3.2.1 Μεταλλικά και Μαγνητικά Νανοσωματίδια (Metallic and Magnetic NPs).....	21
1.3.2.2 Νανοσωματίδια με βάση τα λιπίδια (Lipid-based NPs).....	23
1.3.2.3 Πολυμερικά Νανοσωματίδια (Polymeric NPs).....	24
1.3.2.4 Κβαντικές τελείες (Quantum dots, QDs).....	27
1.3.2.5 Νανοσωματίδια άνθρακα (Carbon-based NPs).....	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΑ	31
Γενικά.....	31
2.1 Ελεγχόμενη χορήγηση και αποδέσμευση φαρμάκων	32
2.2 Κατηγορίες συστημάτων ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων	34
2.2.1 Συστήματα προκαθορισμένου ρυθμού αποδέσμευσης (predetermined-release rate systems)	34
2.2.2 Συστήματα ενεργοποιούμενης αποδέσμευσης (activation-modulated systems).....	34
2.2.3 Συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης από μηχανισμό ανάδρασης (feed back- regulated systems).....	35
2.2.4 Συστήματα στόχευσης (drug targeting systems)	35
2.3 Νανοσωματίδια ως φορείς φαρμάκων	36
2.4 Υβριδικοί νανοφορείς	37
2.5 Γενικά φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά Νανοφαρμάκων.....	38

2.6 Εκτίμηση ασφαλείας Νανοφαρμάκων.....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ	43
Εισαγωγή	43
ΚΑΡΚΙΝΟΣ.....	44
3.1 Καρκινογένεση	44
3.2 Τύποι καρκίνου	46
3.3 Μέθοδοι διάγνωσης του καρκίνου	47
3.4 Θεραπευτικές μέθοδοι για την αντιμετώπιση του καρκίνου	48
3.4.1 Χειρουργική εκτομή όγκου	48
3.4.2 Ακτινοθεραπεία.....	49
3.4.3 Ανοσοθεραπεία	50
3.4.4 Χημειοθεραπεία	50
3.5 Νανοφάρμακα για τη θεραπεία του καρκίνου	53
3.5.1 Σισπλατίνη	56
3.5.2 Δοξορουβικίνη.....	58
3.6 Ανίχνευση και παρακολούθηση καρκίνου με νανοσκευάσματα	59
ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ	60
Γενικά.....	60
3.7 Νανοεφαρμογές στα Καρδιαγγειακά Νοσήματα	62
3.7.1 Νανოსωματίδια και Αθηροσκλήρωση	62
3.7.2 Νανοςωματίδια και Θρόμβωση.....	64
ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....	66
Γενικά.....	66
3.8 Παθήσεις Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ)	68
3.9 Αιματοεγκεφαλικός φραγμός	69
3.9.1 Αιματοεγκεφαλικός φραγμός και θεραπευτικές ουσίες	70
3.10 Νανοςωματιδιακή στόχευση εγκεφάλου	72
3.11 Νανοφάρμακα για τη διάγνωση και θεραπεία των παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος	73
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΩΝ	77
Γενικά.....	77
4.1 Προοπτική νανοφαρμάκων κατά του καρκίνου.....	79

4.2 Προοπτική ναοφαρμάκων κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων.....	83
4.3 Προοπτική ναοφαρμάκων κατά των παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος.....	85
4.4 Ναοφάρμακα για μελλοντική αντιμετώπιση άλλων παθήσεων.....	87
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	90
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	Error! Bookmark not defined.93

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία, η οποία φέρει τον τίτλο *«Νανοφάρμακα κατά του καρκίνου και άλλων ασθενειών-Τρέχουσα κατάσταση-Μελλοντικές προοπτικές»*, εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών στην Μοριακή και Εφηρμοσμένη Φυσιολογία.

Για την εμπιστοσύνη, την καθοδήγηση και την ουσιαστική συμβολή στην ολοκλήρωσή της, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας, κα Μαρία Γαζούλη, η οποία ως επιβλέπουσα και επιστημονική σύμβουλος αποτέλεσε τον πολυτιμότερο καθοδηγητή, συνεργάτη και αρωγό στην επιστημονική μου κατάρτιση και εξειδίκευση, συντελώντας ουσιαστικά στην επιτυχή περάτωση της προσπάθειας αυτής.

Τις ευχαριστίες μου εκφράζω ακόμη, στον Καθηγητή Φυσιολογίας, κύριο Μιχάλη Κουτσιλιέρη, ο οποίος δέχτηκε να είναι μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής αξιολόγησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην ευχαριστήσω επίσης, τον Καθηγητή Ιατρικής Φυσικής-Ακτινοφυσικής, κύριο Ευστάθιο Ευσταθόπουλο, η συμμετοχή του οποίου, ως μέλος της επιτροπής αξιολόγησης τιμά ιδιαίτερα την προσπάθειά μου.

Τέλος, οφείλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου, όχι μόνο για την υπομονή και την κατανόηση που επέδειξε όλον αυτόν τον καιρό, αλλά και για το γεγονός ότι ενθαρρύνει πάντοτε με χαρά και στωικότητα κάθε μου εγχείρημα.

Στο γιο μου, Σοφοκλή

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδος στην έρευνα των Νανοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται για διαγνωστικούς αλλά και θεραπευτικούς σκοπούς. Πρόκειται για έναν αναδυόμενο τομέα που βρίσκει εφαρμογές στην Ιατρική και που χρησιμοποιεί τις έννοιες της Νανοτεχνολογίας για την προηγμένη θεραπεία και διάγνωση. Η σύνθεση των Νανοφαρμάκων, η οποία προϋποθέτει τη συγχώνευση ερευνητικών τομέων όπως η χημεία, η βιολογία, η φυσική, τα μαθηματικά και τη μηχανική, γεφυρώνοντας έτσι το χάσμα μεταξύ των μοριακών και κυτταρικών αλληλεπιδράσεων, έχει τη δυνατότητα να φέρει επανάσταση στην τρέχουσα ιατρική πρακτική.

Η παρούσα μελέτη εστιάζει στις πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της έρευνας των Νανοφαρμάκων και έχει σκοπό να καταδείξει τη σημαντική εφαρμογή τους στην αντιμετώπιση σοβαρών νοσημάτων, όπως οι καρδιαγγειακές διαταραχές (π.χ. αθηροσκλήρωση, επαναστένωση, έμφραγμα του μυοκαρδίου κ.α.), οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες (νόσος Alzheimer, Parkinson, κλπ.), και κυρίως, η διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου. Συγκεκριμένα, συζητείται η χρήση των ειδικά σχεδιασμένων φαρμάκων, η σύνθεση των οποίων στηρίζεται στη Νανοτεχνολογία, που στοχεύουν στην έγκαιρη ανίχνευση, μοριακή απεικόνιση και θεραπεία των προαναφερθέντων νοσημάτων. Τέλος, γίνεται ανάλυση των πειραματικών δεδομένων και εκτενής αναφορά στα προσδοκώμενα αποτελέσματα από τη σύνθεση, βελτίωση και τελειοποίηση των Νανοφαρμάκων, καθώς και στην χρήση αυτών και άλλων σκευασμάτων που βασίζονται στη Νανοϊατρική Τεχνολογία, με αποκλειστικό σκοπό την καθολική τους χρήση στους τομείς που βρίσκουν εφαρμογή.

Για την συγγραφή της έγινε χρήση των έως σήμερα καταχωρημένων βιβλιογραφικών δεδομένων, τα οποία αξιολογήθηκαν και διαμορφώθηκαν κατάλληλα, ώστε να παρουσιαστούν με τρόπο ενιαίο και αναλυτικό, υπό την μορφή περίληψης.

Ειδικότερα, επιχειρήθηκε η διεξοδική ανάλυση του μηχανισμού δράσης των Νανοφαρμάκων στη θεραπεία του καρκίνου και των άλλων σοβαρών νοσημάτων, με παράλληλη αναφορά στα πλεονεκτήματα και μειονεκτημάτων που πιθανόν παρουσιάζουν σε σχέση με τις υπάρχουσες θεραπείες.

ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ: Νανοτεχνολογία, Νανοϊατρική, Νανοςωματίδια, Νανοφάρμακα Top down,
Bottom up, νανοφορείς

Abstract

In the last few years, great progress has been made in the research of Nanomedicine used for diagnostic and therapeutic purposes. It is about an emerging scientific field that can be applied in medicine, due to the use of Nanotechnology, for both advanced treatment and diagnosis. The synthesis of Nanomedicine, which involves merging research areas such as chemistry, biology, physics, mathematics and engineering, thus bridging the gap between molecular and cellular interactions, has the power to revolutionize current medical practice.

This study focuses on the recent developments in the field of nanopharmaceutical research and aims to demonstrate the important application in the treatment of serious diseases, such as cardiovascular disorders (eg atherosclerosis, restenosis, myocardial infarction, etc.), neurodegenerative diseases (Alzheimer's disease, Parkinson disease, etc.), and above all, the diagnosis and treatment of cancer. In particular, it is going to be discussed the use of specially designed drugs, the synthesis of which is based on Nanotechnology, aiming at the early detection, molecular imaging and therapy of the aforementioned diseases.

In order to compose this thesis, there has been used registered bibliographic data, which has been assessed, properly treated, and presented in an integrated and detailed way under a summary format. In particular, it was attempted a thorough analysis of Nanomedicines' mechanisms of action in treating cancer and other serious diseases, with an indication of the advantages and disadvantages that may show in relation to already existing treatments.

There had also been an analysis of experimental data and extensive reference to the current situation and the expected results from the future use of nanomedicines and other structures based on Nanomedicine Technology.

KEY WORDS: Nanotechnology, Nanomedicine, Nanoparticles, Nanomedicine, Top down, Bottom up, nanocarriers

Λεξικό Συντμήσεων

AFM	:	Atomic Force Microscopy, Μικροσκοπία Ατομικής Δύναμης
AgNPs	:	Silver Nanoparticles, Νανοσωματίδια αργύρου
AHA	:	American Heart Association
AuNPs	:	Gold Nanoparticles, Νανοσωματίδια χρυσού
BBB	:	Blood Brain Barrier, Αιματοεγκεφαλικός φραγμός
CNT	:	Carbon Nanotubes, Νανοσωλήνες άνθρακα
CSCs	:	Cancer Stem Cells, Καρκινικά βλαστοκύτταρα
CVD	:	Cardiovascular Diseases, Καρδιαγγειακές παθήσεις
ECR	:	Enhanced Permeability and Retention Effect, Ενισχυμένη Διαπερατότητα και Κατακράτηση
FDA	:	Food and Drug Administration, Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων
GO	:	Graphene Oxide, Οξείδιο γραφενίου
MEMS	:	Microelectromechanical Systems, Μικροηλεκτρομηχανικό Σύστημα
MRI	:	Magnetic Resonance Imaging, Μαγνητική Απεικόνιση Συντονισμού
MWCNT	:	Multi-walled Carbon Nanotube, Νανοσωλήνες πολλαπλών τοιχωμάτων
NEMS	:	Nanoelectromechanical Systems, Νάνο ηλεκτρομηχανικό Σύστημα
NIH	:	National Institutes of Health,
NIR QDs	:	Near-infrared Quantum Dots, Κβαντικές τελείες υπερύθρων
NPs	:	Nanoparticles, Νανοσωματίδια
PEG	:	Poly (ethylenoglycol), Πολυαιθυλενογλυκόλη
QDs	:	Quantum Dots, Κβαντικές τελείες
RES	:	Reticuloendothelial system, Δικτυοενδοθηλιακό σύστημα
ROS	:	Reactive Oxygen Species, Δραστικές Μορφές Οξυγόνου
SEM	:	Scanning Electron Microscopy, Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης
Si-QDs	:	Silicon Quantum Dots, Κβαντικές τελείες πυριτίου
SWCNT	:	Single walled Carbon Nanotube, Νανοσωλήνες με ένα τοίχωμα
ΚΝΣ	:	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

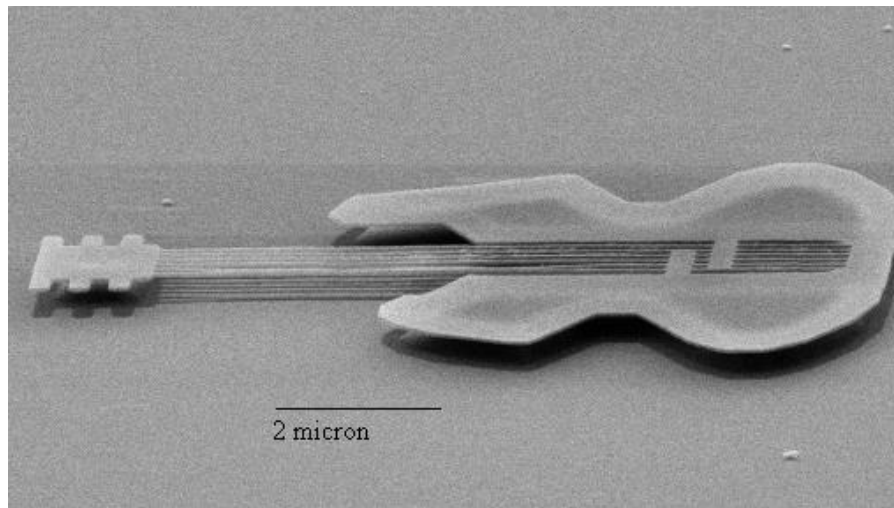
Ιστορική αναδρομή

Ο όρος «Νανοτεχνολογία» δεν είναι νέος. Τουναντίον, πρόκειται για μια έννοια, η οποία «εγκιβωτίζει» το αποτέλεσμα επίπονων και μακροχρόνιων επιστημονικών ερευνών από επιφανείς και διακεκριμένους επιστήμονες. Αναφορά στον όρο, όχι με την χρήση της συγκεκριμένης λέξης, έγινε για πρώτη φορά το 1959, στην Πασαντίνα των ΗΠΑ, από τον φυσικό Richard Feynmann, σε διάλεξή του προς την Αμερικανική Φυσική Εταιρεία με τίτλο: “Plenty of room at the Bottom” («Υπάρχει άφθονος χώρος στο βάθος»). Θέτοντας τον προβληματισμό του στην επιστημονική κοινότητα, σχετικά με την ανάγκη διαχείρισης και ελέγχου της ύλης σε μικροσκοπικό επίπεδο, ο Feynmann θεμελίωσε στην ουσία τις βάσεις για την ανάπτυξη της σύγχρονης Νανοτεχνολογίας. Συγκεκριμένα, αυτό που προσπάθησε να κάνει ήταν να κατευθύνει το επιστημονικό ενδιαφέρον στη σημασία διαχείρισης και ελέγχου της ύλης σε μικροσκοπικό επίπεδο, όχι κατακερματίζοντας μεγάλους όγκους, αλλά δημιουργώντας ύλη άτομο προς άτομο (“bottom-up”), προκαλώντας ταυτόχρονα φυσικούς, χημικούς και βιολόγους στην αναζήτηση τρόπων διαχείρισης και ελέγχου της σε ατομικό επίπεδο. Στόχος του ήταν η κατασκευή συσκευών αρκετά μικρών σε μέγεθος, οι οποίες θα είχαν τη δυνατότητα να παράγουν και να αποθηκεύουν ενέργεια ή πληροφορία σε πολύ μικρό χώρο. (Feynman, 1959)

Επισημώς, ο όρος Νανοτεχνολογία, αναφέρθηκε αργότερα, περί το 1974, από τον καθηγητή του Πανεπιστημίου Επιστημών του Τόκιο Norio Taniguchi, στη διατριβή του με τίτλο «Σχετικά με τη βασική έννοια της Νανοτεχνολογίας», στην οποία περιέγραφε συν τοις άλλοις, τον ακριβή τρόπο κατασκευής υλικών σε κλίμακα νανομέτρου. Κατά την δεκαετία του '80 ο όρος επανήλθε στην επιστημονική σκέψη και ορίστηκε εκ νέου, αυτή τη φορά με μεγαλύτερη ακρίβεια, από τον Eric Drexler, στο βιβλίο του με τίτλο «Μηχανές Δημιουργίας: η επερχόμενη Εποχή της Νανοτεχνολογίας» που εκδόθηκε το 1986. (Schultz, 2007) Σημαντικό σημείο αναφοράς για τον όρο αποτελεί επίσης και το έτος 1990, όταν η επιχείρηση τεχνολογίας πληροφοριών I.B.M. τοποθέτησε με ακρίβεια και επιμέλεια 35 άτομα του χημικού στοιχείου Xe (ξένον) για τη συγγραφή των τριών γραμμμάτων της εταιρείας, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο το μικρότερο λογότυπο (logo) εταιρείας στον κόσμο.

Λίγα χρόνια αργότερα, επιστήμονες του Πανεπιστημίου Cornell της Νέας Υόρκης, προέβησαν στην παραγωγή μιας αόρατης «νανοκιθάρας», ενός μουσικού δηλαδή οργάνου, το οποίο δεν ήταν δυνατόν να γίνει αντιληπτό με γυμνούς οφθαλμούς, δεδομένου ότι είχε μέγεθος

μόλις 10 μ m (10 x 10⁻⁶m). Η παραγωγή ήχου σε ένα τέτοιο μουσικό «νανοόργανο» βασίζεται στην λογική ότι μόνο οι χορδές που έχουν κατασκευαστεί από άτομα ορισμένων χημικών στοιχείων μπορούν να διεγερθούν με δέσμες laser έτσι ώστε να παραχθούν 17 οκτάβες πάνω από κείνες που έχουν οι συνηθισμένες κιθάρες, δηλαδή ήχοι που υπερβαίνουν την ικανότητα ακοής του ανθρώπου. (Bernand, 1997)



Εικόνα 1.1: Η μικρότερη κιθάρα στον κόσμο μήκους 10 μ m, ίση περίπου με το μέγεθος ενός κυττάρου
Πηγή: Bernand, L, Physical Sciences & Engineering, Cornell University, 1997

Τέλος, το 1999 επιστήμονες της εταιρείας Hewlett-Packard στην Καλιφόρνια των ΗΠΑ, δημιούργησαν κυκλώματα που έχουν πάχος τόσο όσο οι διαστάσεις ενός μορίου, κατατάσσοντάς τα στην πρώτη θέση μεταξύ των μικρότερων κυκλωμάτων που κατασκευάστηκαν ποτέ. Η ανάπτυξη τους έφερε επανάσταση στην αρχιτεκτονική των ηλεκτρονικών υπολογιστών και κατοχύρωσε δικαίως μια θέση στο περιοδικό Science, το οποίο ανακοίνωσε επισήμως το γεγονός τον Ιούλιο του 1999. Έκτοτε, αμέτρητα υλικά και συστήματα, προσαρμοσμένα στις καινούργιες επιστημονικές πρακτικές, έχουν αποφέρει σπουδαίες τεχνολογικές καινοτομίες και έχουν συντελέσει σημαντικά στην πρόβλεψη και παρατήρηση φαινομένων που συμβαίνουν στην νανοκλίμακα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

1.1 Εισαγωγή στη Νανοτεχνολογία

Αν και είναι δύσκολο να δοθεί ένας πλήρης ορισμός που να μπορεί να περιγράψει επαρκώς τη δυναμική της Νανοτεχνολογίας, ωστόσο είναι σκόπιμο να επιχειρηθεί ο προσδιορισμός της, προκειμένου να γίνει καθόλα αντιληπτή η έκταση εφαρμογής των νανομεγεθών υλικών στον πραγματικό κόσμο.

Προσεγγιστικά, θα λέγαμε ότι Νανοτεχνολογία μπορεί να χαρακτηριστεί οποιαδήποτε τεχνολογία που ασχολείται με την παραγωγή και χρήση μηχανικών, φυσικών, χημικών και βιολογικών συστημάτων κατασκευασμένων από μεμονωμένα άτομα ή μόρια, των οποίων οι διαστάσεις είναι κάτω του μικρόμετρου ($1\mu\text{m}=1\times 10^{-6}\text{m}$ ή $0,000001\text{m}$), καθώς και με την προσθήκη των νανοδομών αυτών σε μεγαλύτερα συστήματα. Εξαιτίας της πληθώρας των εφαρμογών της, η Νανοτεχνολογία μπορεί να θεωρηθεί ως η σύγχρονη βιομηχανική επανάσταση, εφόσον μάλιστα πληροί όλες της προϋποθέσεις μιας εποχής καινοτομιών σε όλα σχεδόν τα πεδία, από τα απλά αντικείμενα καθημερινής χρήσης έως τα πιο πολύπλοκα εργαλεία της επιστημονικής έρευνας.

Τα νανοδομικά υλικά, εκείνα δηλαδή που περιλαμβάνουν τουλάχιστον μία επιφάνεια νανομετρικών διαστάσεων, αποτελούνται κατά βάση από τα στοιχειώδη συστατικά τους. Μπορεί για παράδειγμα να απαρτίζονται από τα ίδια τα άτομα της χημικής τους σύστασης, από μοριακά συμπλέγματα, αποτέλεσμα της αυθόρμητης συγκρότησής τους μέσω απλών αντιδραστηρίων στα διαλύματα, από βιολογικά μόρια που χρησιμοποιούνται σαν βάση για την σύνθεση τρισδιάστατων νανοδομών, από κβαντικά σημεία διαμέτρου περίπου 10 έως 10^5 ατόμων, κ.ο.κ.

Προκειμένου να γίνουν κατανοητές οι διαστάσεις των υλικών για τα οποία γίνεται λόγος, είναι δόκιμο να επιχειρηθεί μια σύντομη ταξινόμηση τους, με βάση τον χώρο τον οποίο καταλαμβάνουν. Συγκεκριμένα, ένα υλικό «όγκου»-που βρίσκεται συνήθως σε στερεή κατάσταση-έχει όλες του τις διαστάσεις στη μακροκλίμακα. Το υλικό αυτό δύναται να χάσει μεγάλος μέρος της μάζας του, κατόπιν ειδικής επεξεργασίας και ως εκ τούτου, να μετατραπεί

από υλικό τριών διαστάσεων 3-D σε υλικό δύο διαστάσεων 2-D, να «απωλέσει» δηλαδή τη μία εκ των διαστάσεών του. Τέτοια νανοϋλικά, όπως τα λεπτά υμένια, έχουν μέγιστο πάχος 1000nm (ή 1μm). Αν συνεχίσουμε τη μείωση του όγκου κατά μία ακόμη διάσταση, μπορούμε πλέον να μιλάμε για μονοδιάστατα νανοϋλικά 1-D, όπως είναι για παράδειγμα οι νανοσωλήνες άνθρακα, ενώ προχωρώντας στη σμίκρυνση της μίας και μοναδικής διάστασης, ώστε το μέγεθός της να κυμαίνεται στη νανοκλίμακα (1-100nm), τότε μπορούμε να κάνουμε λόγο για «αδιάστατα» νανοϋλικά 0-D, όπως είναι π.χ. οι κβαντικές τελείες (quantum dots) (Πίνακας 1) (Massimiliano Di Ventra, 2004).

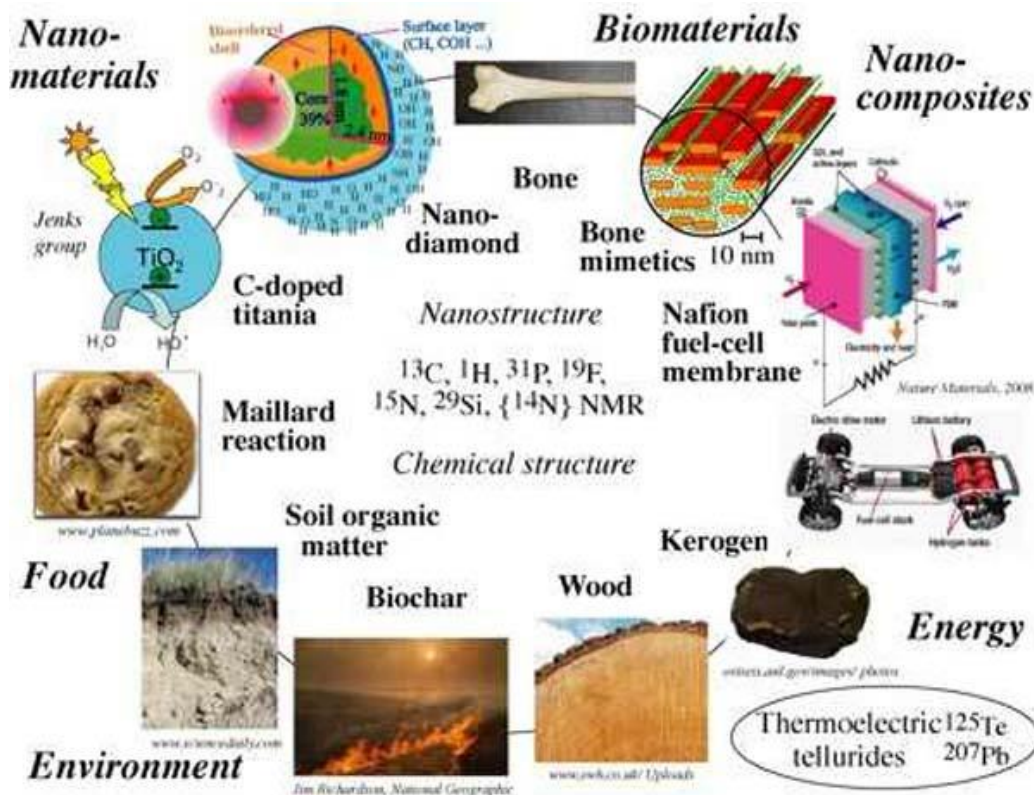
Αριθμός Διαστάσεων	Μέγεθος	Νανοϋλικό
3-D	Ικανό αριθμό nm και στις τρεις διαστάσεις	Πορώδη υλικά, υπερπλέγματα αυτοσυναρμολογούμενοι νανοκρύσταλλοι (νανοσωματίδια που εμφανίζουν κρυσταλλική ατομική δομή)
2-D	1-1000nm (πάχος)	Λεπτά υμένια, κβαντικά πηγάδια
1-D	1-100nm	Νανοσωλήνες, νανοραβδιά
0-D	1-100nm	Νανοσωματίδια, κβαντικές τελείες (ημιαγώγιμα νανοσωματίδια διαστάσεων έως 10nm)

Πίνακας 1: Ταξινόμηση υλικών βάσει του αριθμού των διαστάσεων που βρίσκονται στην κλίμακα νανομέτρου.

1.2 Εφαρμογές της Νανοτεχνολογίας

Πέρα από το προφανές όφελος της βέλτιστης διαχείρισης του χώρου, από την κατασκευή δομών και συστημάτων απειροελάχιστων διαστάσεων, η Νανοτεχνολογία βρίσκει πλείστες άλλες εφαρμογές σε διάφορους τομείς της επιστήμης και της καθημερινής ζωής. Προηγμένα υλικά σε νανοκλίμακα χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία και την βιοτεχνία (π.χ. νανοπορώδη προστατευτικά υφάσματα), στον τομέα της ενέργειας και του περιβάλλοντος (π.χ. θερμοφωτοβολταϊκές κυψέλες, φωτοηλεκτρικά και τρίτης γενιάς ηλιακά στοιχεία), στην βιομηχανία τροφίμων, στην επιστήμη των υπολογιστών (π.χ. σκληροί δίσκοι με ανώτερη χωρητικότητα), στην αυτοκινητοβιομηχανία και την αεροδιαστημική (π.χ. στροβιλοκινητήρες και ρουκέτες), στην ηλεκτρομηχανική (νάνο ηλεκτρομηχανικά συστήματα MEMS, NEMS),

στην φαρμακολογία, καθώς και στην οδοντιατρική (π.χ. νανοϋβριδικά πληρωτικά υλικά μεγάλης αντοχής), και την νανορομποτική.



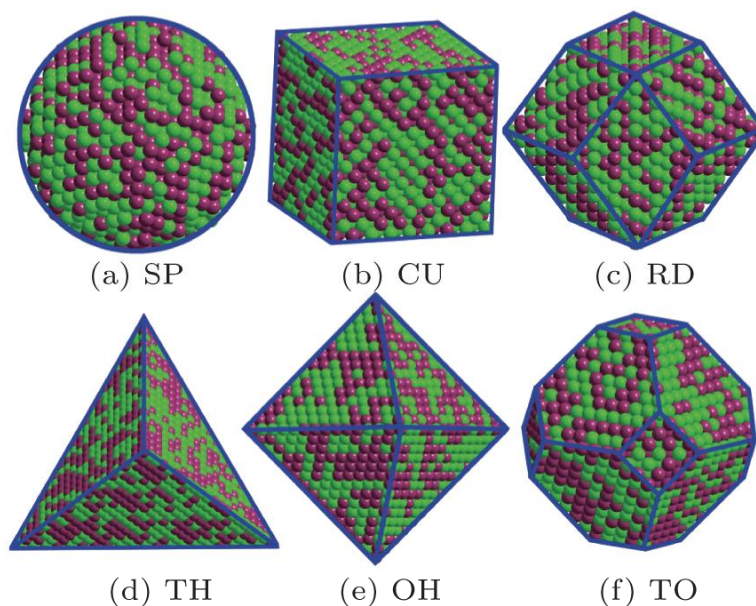
Εικόνα 1.2: Εφαρμογές Νανοτεχνολογίας

Πηγή: Schmidt-Rohr, K., Physical Chemistry of Polymers & Nanocomposites, Analysis of Complex Organic Matter, Solid-state NMR Methods, Iowa StateUniversity

Μία από τις πλέον σημαντικές εφαρμογές της όμως, είναι αυτή που αφορά στην Ιατρική-διαγνωστική και θεραπευτική-για την οποία και θα γίνει εκτενής αναφορά σε επόμενο κεφάλαιο. Σε αυτό το σημείο όμως, είναι χρήσιμο να ειπωθεί ότι η νανοϊατρική διαφέρει θεμελιωδώς από την «παραδοσιακή» ιατρική, καθώς χρησιμοποιεί υλικά και μεθόδους προσαρμοσμένα στις γνώσεις και τα εργαλεία της Νανοτεχνολογίας, με συνέπεια η πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία των διαφόρων παθήσεων να γίνεται δρώντας στοχευμένα στον νοσούντα ιστό ή όργανο. Σημαντική είναι επίσης, η προσφορά της στην κατανόηση των μηχανισμών της παθοφυσιολογίας των ασθενειών, με σκοπό την ελεγχόμενη χορήγηση θεραπείας και την ταυτόχρονη ελάττωση των μειονεκτημάτων που πιθανόν να παρουσιάζει, καθώς και της βελτίωσης της ποιότητας ζωής των ασθενών.

1.3 Νανοςωματίδια (Nanoparticles, NPs)

Τα Νανοςωματίδια, στερεά-κolloειδή σωμάτια, αποτελούν τον φορέα υλοποίησης των καινοτόμων συστημάτων και διατάξεων στη νανοκλίμακα και είναι το «σταυροδρόμι» μεταξύ των συμπαγών υλικών και των ατομικών-μοριακών δομών. Το μέγεθός τους κυμαίνεται από 1 μέχρι 100 nm και δύνανται να έχουν άλλοτε συμμετρικό σχήμα (π.χ. κύβος, σφαίρα, πολύεδρο) και άλλοτε μη συμμετρικό ή αλλιώς ανισότροπο (π.χ. νανοραβδιά, διακλαδισμένες και πολυσύνθετες δομές). Δεδομένου ότι πρόκειται για επιφάνειες σε ατομική κλίμακα, την τελική τους διάταξη στον χώρο καθορίζουν διάφοροι παράγοντες, όπως το είδος του υλικού, η κρυσταλλική δομή των πυρήνων τους και ο σχετικός προσανατολισμός τους ως προς τους άξονες συμμετρίας του κρυστάλλου.



Εικόνα 1.3: Διμεταλλικά νανοςωματίδια Pt-Pd (Λευκόχρυσου-Παλλαδίου) σε διάφορους σχηματισμούς: (a) σφαίρα, (b) κύβος, (c) ρομβικό δωδεκάεδρο, (d) τριέδرو, (e) οκτάεδρο, (f) πενταγωνικό δωδεκάεδρο.

Πηγή: Tun-Dong, L., Morphology and structural stability of Pt-Pd bimetallic nanoparticles.

Εκτός όμως από τα νανοςωματίδια, όπως ορίστηκαν προηγουμένως, στην βιβλιογραφία συναντάται συχνά και ο όρος «μοριακό συσσωμάτωμα» (cluster), ο οποίος αναφέρεται στα συστήματα με μέγεθος μικρότερο του 1nm. Επίσης, γίνεται λόγος για νανοκρυστάλλους (nanocrystals) και νανοσκόνη (nanopowder), εννοώντας τα νανοςωματίδια με κρυσταλλική ατομική δομή, και τα άμορφα-ανομοιογενή σωματίδια, αντίστοιχα.

Οι ιδιότητες των Νανοσωματιδίων εμφανίζονται ιδανικές για τους επιστήμονες, εφόσον στην κλίμακα διαστάσεών τους (1-100 nm ή και μικρότερα) λαμβάνουν χώρα ασυνήθιστα φυσικά και βιοχημικά φαινόμενα, γεγονός που τα καθιστά ελκυστικά για την ρύθμιση και διαχείριση της ύλης σε ατομική κλίμακα και τα διαφοροποιεί σημαντικά από τα μακροσκοπικά υλικά «όγκου» (bulk). Την ιδιαιτερότητα της φύσης τους καθορίζει η ηλεκτρονική τους δομή, οι μαγνητικές, ηλεκτρικές και οπτικές τους ιδιότητες, η δραστηριότητα της επιφανείας τους και το συγκρίσιμο μέγεθός τους με αυτό των βιολογικών μορίων (Poole, 2003).

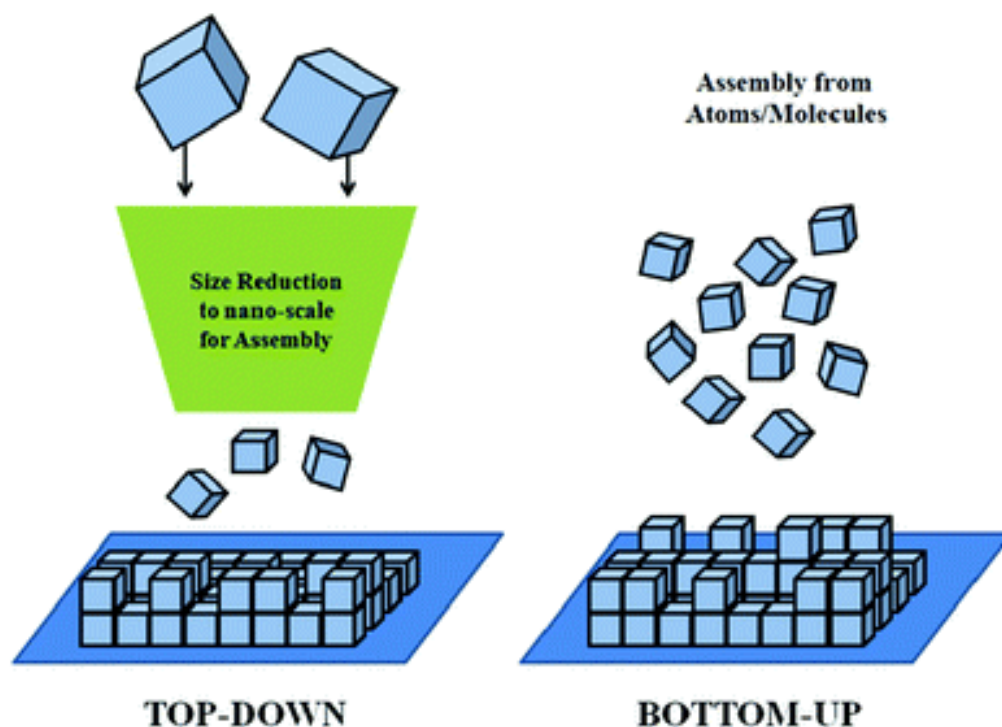
1.3.1 Κατηγοριοποίηση Νανοσωματιδίων (NPs)

Υπάρχει πληθώρα νανοσωματιδίων, που διαφέρουν στο μέγεθος, το σχήμα, τον τρόπο σύνθεσης και λειτουργίας, καθώς και στο πεδίο των εφαρμογών στο οποίο εμπίπτουν. Παρόλα αυτά μπορούμε να τα εντάξουμε σε δύο βασικές κατηγορίες: σε αυτά που υπόκεινται σε “top down” διαδικασίες παρασκευής και σε εκείνα που ακολουθούν τις “bottom up” τεχνικές.

Η πρώτη, αφορά στις μεθόδους που ξεκινούν από πρώτες ύλες μακροσκοπικού μεγέθους (bulk), οι οποίες κατόπιν διαφόρων διεργασιών (π.χ. λιθογραφία ηλεκτρονικής ακτινοβολίας, λιθογραφία με X-ray, λιθογραφία με laser, εγχάραξη εστιασμένης ιοντικής ακτινοβολίας υπερύθρου, UV-λιθογραφία, βομβαρδισμός με σωματίδια κλπ.), οδηγούν στο σχηματισμών δομών μεγέθους νανοκλίμακας (Biswas, 2012). Το σύνολο των “top down” μεθόδων παραγωγής νανοσωματιδίων βρίσκει εφαρμογή σε μαζικής κατανάλωσης προϊόντα, τα οποία αποτελούν την βάση της βιομηχανίας μικροηλεκτρονικών συστημάτων. Παρόλα αυτά, αποδεικνύεται αναποτελεσματική και ασύμφορη, εξαιτίας του μεγάλου κόστους και της ανομοιογένειας των παραγόμενων προϊόντων.

Αντίθετα, η “bottom up” προσέγγιση (ή αλλιώς οι μέθοδοι σύνθεσης «υγρής χημείας») στηρίζεται στη λογική της παραγωγής νανοςυστημάτων μεγαλύτερων διαστάσεων, ξεκινώντας από σωματίδια ατομικού ή μοριακού μεγέθους. Ακολουθούνται δε διαδικασίες που στηρίζονται στην χημική σύνθεση, καθώς και στην αυτοοργάνωση της ύλης, με χρήση των ιδιοτήτων της σε ατομικό και μοριακό επίπεδο, καθώς και των νόμων της φυσικής που τη διέπουν (π.χ. επικράτηση ηλεκτροστατικών, διαμοριακών και ενδομοριακών δυνάμεων ή δυνάμεων Van der Waals), οργανώνοντάς την τελικά σε νανοσωματίδια. Οι μέθοδοι “bottom up” θεωρούνται προτιμότερες στις περιπτώσεις που οι επιθυμητές διαστάσεις και η μορφολογία των παραγόμενων νανοσωματιδίων υπόκεινται σε αυστηρό περιορισμό ή όταν απαιτείται υψηλή

ομοιογένεια και καθαρότητα των συντιθέμενων κρυσταλλικών νανοδομών. Επιπλέον, χάρη στην ικανότητά τους να ανταλλάσσουν υποκαταστάτες, τα παραγόμενα νανοσωματίδια καθίστανται πιο λειτουργικά και αποτελεσματικά, για τις περιπτώσεις που κάτι τέτοιο είναι αναγκαίο (Biswas, 2012). Παρόλα τα προαναφερθέντα πλεονεκτήματα και το γεγονός ότι οι “bottom up” διαδικασίες αποτελούν οικονομική πρακτική παραγωγής νανοσωματιδίων, ωστόσο δεν ενδείκνυνται για μαζικές βιομηχανικές εφαρμογές, λόγω της χαμηλής τους απόδοσης.



Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση “top down” και “bottom up” μεθόδων παραγωγής νανοσωματιδίων.

Πηγή: Bottom-up and top-down methods of synthesis, 2017.

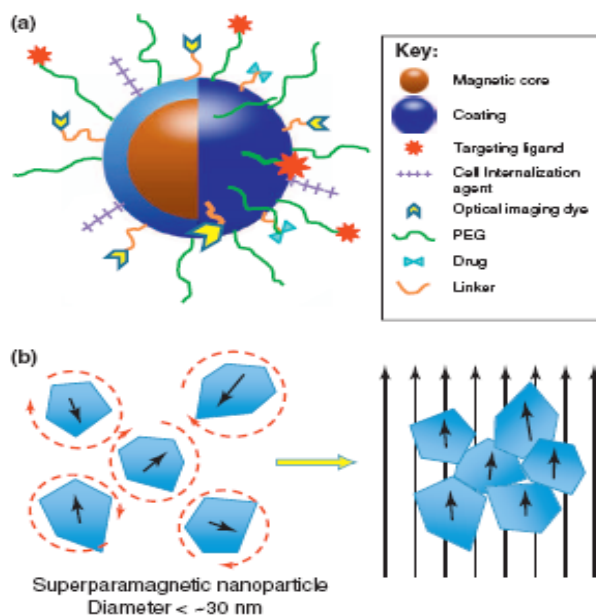
1.3.2 Τύποι Νανοσωματιδίων (NPs) με εφαρμογές στην Ιατρική

Ανεξάρτητα από τις προαναφερθείσες κατηγορίες μεθόδων παραγωγής νανοσωματιδίων και με δεδομένο ότι την παρούσα μελέτη απασχολούν ζητήματα σχετιζόμενα με την βιοϊατρική έρευνα, θα ακολουθήσει αναφορά σε εκείνα που χρησιμοποιούνται συχνότερα ως «όχημα» για την μεταφορά φαρμάκων, τη διάγνωση και, τελικά, την αντιμετώπιση σοβαρών ασθενειών, όπως ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, οι νευρολογικές παθήσεις, κλπ.

1.3.2.1 Μεταλλικά και Μαγνητικά Νανοσωματίδια (Metallic and Magnetic NPs)

Υπερπαραμαγνητικοί κρύσταλλοι οξειδίου του σιδήρου (Superparamagnetic iron oxide crystals) ή Μαγνητικά νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου

Μια βασική κατηγορία νανοσωματιδίων, με σημαντική προσφορά στον τομέα της ιατρικής και της βιολογίας, είναι τα υπερπαραμαγνητικά νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου, όπως είναι για παράδειγμα ο μαγνητίτης Fe_3O_4 , ο μαγκεμίτης $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ και ο αιματίτης $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Πρόκειται για σωματίδια που μπορούν να παρασκευαστούν με πολλές διαδικασίες, οι οποίες ακολουθούν ένα ή περισσότερα στάδια για την ολοκλήρωσή τους. Μεταξύ των πιο κοινών συγκαταλέγονται η μέθοδος της υδρολυτικής καταβύθισης, η τεχνική της εξάτμισης, η θερμολυτική διαδικασία και ο μηχανισμός των ανάστροφων μικκυλίων. (Voulgari, 2016) Η συχνότερη όμως μέθοδος σχηματισμού τους είναι η αλκαλική συγκαταβύθιση ιόντων σιδήρου, (Fe^{2+}) και (Fe^{3+}), σε νερό, παρουσία ενός κατάλληλου υδρόφιλου πολυμερούς, όπως για παράδειγμα η δεξτράνη (Dextran) ή η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG). Από τη διαδικασία αυτή προκύπτουν κρύσταλλοι διαμέτρου 4-5nm, εξαγωνικού σχήματος, περιβαλλόμενοι από μόρια δεξτράνης ή πολυαιθυλενογλυκόλης (Moghimi Moein, 2005).



Εικόνα 1.5: Υπερπαραμαγνητικό νανοσωματίδιο διαμέτρου <30nm ως φορέα φαρμάκου: α) ανάλυση δομής με υπόμνημα, β) συμπεριφορά μαγνητικών νανοσωματιδίων σε εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο.

Πηγή: Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Surface Modifications and Application in Drug Delivery, 2012

Τόσο το μέγεθός τους, το οποίο μπορεί κάλλιστα να συγκριθεί με εκείνο των κυττάρων, των ιών ή των γονιδίων, όσο και οι μαγνητικές ροπές που αναπτύσσουν, όταν εισέρχονται σε μαγνητικό πεδίο-δημιουργώντας έτσι μια εντοπισμένη διαταραχή στην ομοιογένεια του-τα καθιστούν πολύτιμα εργαλεία στον τομέα της βιοϊατρικής. Σημαντικό είναι επίσης το γεγονός ότι η μαγνητική «μνήμη» τους χάνεται όταν αφαιρεθεί το πεδίο και συνεπώς, κάθε επαγόμενη μαγνητική διαταραχή, «πυροδοτεί» ή «κατασβήνει» εναλλάξ τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υπερπαραμαγνητικών κρυστάλλων οξειδίου του σιδήρου και των γειτονικών πρωτονίων. Τέλος, στους μαγνητικούς αυτούς νανοκρυστάλλους δύνανται να προσδεθούν μικρές λειτουργικές ομάδες που καθιστούν δραστικότερη την επιφάνειά τους, καθώς και πρωτεΐνες, αντισώματα ή ολιγονουκλεοτίδια, επιτυγχάνοντας έτσι δραστική στόχευση κυττάρων *in vivo* ή αποτελεσματικότερες διαγνωστικές διαδικασίες *in vitro* (Moghimi Moein, 2005).

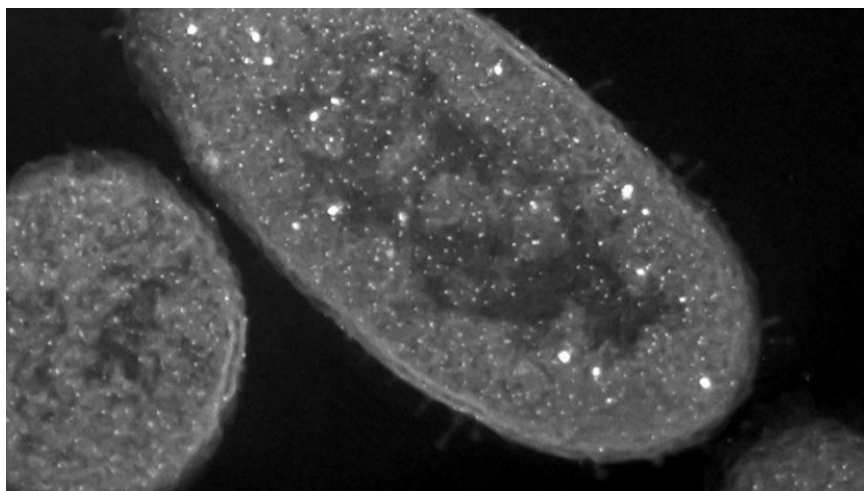
Νανοσωματίδια χρυσού (AuNPs)

Μεταξύ των μεταλλικών νανοσωματιδίων που αναπτύσσονται τα τελευταία χρόνια για εφαρμογές στην Ιατρική, κερδίζει δημοτικότητα η χρήση νανοσωματιδίων χρυσού (AuNPs). Πράγματι, η επιστημονική έρευνα στρέφει το ενδιαφέρον της στα AuNPs, αφού φαίνεται να είναι αποτελεσματικά στην ανίχνευση καρκινικών όγκων, στην μεταφορά και απελευθέρωση φαρμάκων, καθώς και στην ενίσχυση των φωτοθερμικών θεραπειών, με σκοπό την εξάλειψή τους (Zhao-Zhin, 2011).

Τα AuNPs θεωρούνται χημικώς σταθερά, βιοσυμβατά και ως εκ τούτου κατάλληλα για *in vivo* εφαρμογές, εν συγκρίσει μάλιστα με τα περισσότερο τοξικά νανοσωματίδια καδμίου και αργύρου. Διαθέτουν ισχυρές οπτικές ιδιότητες, λόγω των εντοπισμένων επιφανειακών πλασμονίων (LSPR, Localized Surface Plasmon Resonance), και ευέλικτη χημικά επιφάνεια, που επιτρέπει την προσθήκη επιπλέον λειτουργικών ομάδων (Lewinski, 2008). Τέλος, είναι εύκολα ελεγχόμενα, εξαιτίας του μεγέθους και του σχήματός τους, ενώ η *in situ* σύνθεσή τους, η οποία πραγματοποιείται σε οργανικές και ανόργανες μήτρες, απαιτεί την χρήση πολυμερούς που να τους προκαλεί ανισότροπο προσανατολισμό, έτσι ώστε να προσδίδει σε αυτά οπτικές και ηλεκτρικές ιδιότητες. Το χρώμα τους διαφοροποιείται ανάλογα με το σχήμα και το μέγεθός τους, ενώ κάθε αλλαγή στην μορφολογία τους προκαλεί ταυτόχρονη αλλαγή στο χρώμα τους. (Anvica, 2013)

Νανοσωματίδια αργύρου (AgNPs)

Ομοίως με τα προηγούμενα, τα νανοσωματίδια αργύρου (AgNPs) εμφανίζουν μοναδικές φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες, οι οποίες μπορούν εύκολα να μεταβληθούν, χαρίς την αναλογία επιφάνειας προς όγκο, και ως εκ τούτου είναι δυνατόν να αξιοποιηθούν στην ιατροβιολογική έρευνα. Για τη σύνθεσή τους δεν ενδείκνυνται οι συμβατικές φυσικοχημικές μέθοδοι, και τούτο γιατί είναι αρκετά δαπανηρές και επιβλαβείς, εξαιτίας της τοξικότητας των συντιθέμενων προϊόντων. Προτιμάται ο τρόπος βιολογικής παρασκευής, καθώς τα παραγόμενα AgNPs, εκτός των άλλων, έχουν αντιβακτηριδιακές ιδιότητες, παρουσιάζουν υψηλή απόδοση, σταθερότητα και διαλυτότητα, ενώ η διαδικασία ανοικοδόμησής τους είναι πιο απλή και γρήγορη, μη τοξική και αξιόπιστη. Προσδίδουν δε σε αυτά καλά καθορισμένο σχήμα και μέγεθος, ενώ κατόπιν βελτίωσης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιολογικοί αισθητήρες ανίχνευσης ουσιών καθώς και για μεταγραφική έρευνα. (Xi-Feng, 2016)



Εικόνα 1.6: Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, στην οποία απεικονίζονται βακτηρίδια με αποθηκευμένα AgNPs στα κύτταρά τους (ορατά στο εσωτερικό του βακτηρίου ως λευκές κουκκίδες). Τα βακτήρια καθίστανται με αυτόν τον τρόπο θανατηφόρα προς άλλα βακτήρια, αποδεικνύοντας την αντιβακτηριδιακή δράση των νανοσωματιδίων αργύρου.

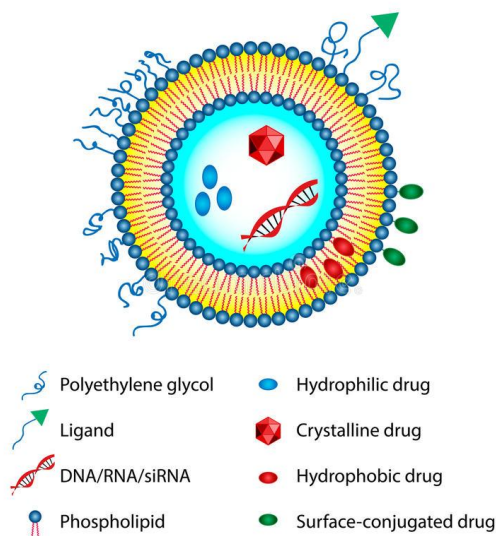
Πηγή: Science, “Silver turns bacteria into deadly zombies”, 2015

1.3.2.2 Νανοσωματίδια με βάση τα λιπίδια (Lipid-based NPs)

Λιποσώματα (Liposomes)

Τα λιποσώματα είναι μικροσκοπικά, φωσφολιπιδικά σφαιρικά κυστίδια, που περιβάλλονται από μονή ή πολλαπλή λιπιδική διπλοστοιβάδα και έχουν μέγεθος εύρους 50-1000nm (Langner, 1999). Η μέθοδος σχηματισμού τους είναι η αυθόρμητη αυτοσυναρμολόγηση από αμφίφιλα φωσφολιπίδια και στερόλη-κατά βάση χοληστερόλη-σε υδατικό διάλυμα.

Πρόκειται για μια πολλά υποσχόμενη κατηγορία σωματιδίων στη νανοκλίμακα, που μπορούν να λειτουργήσουν ως φαρμακευτικοί φορείς, λόγω της μοναδικής τους ικανότητας να μεταβάλλουν τις ιδιότητές τους ανάλογα με τη διαδικασία που ακολουθήθηκε κατά τον σχηματισμό τους, το μέγεθός τους και το επιφανειακό τους φορτίο. Ακόμη, δύνανται να τροποποιήσουν την επιφάνειά τους, προσδένοντας στην λιπιδική διπλοστοιβάδα τους αλυσίδες PEG, ενισχύοντας έτσι την σταθερότητάς τους και παρατείνοντας τον χρόνο ημίσειας ζωής κατά την κυκλοφορία τους στο αίμα. Τα τροποποιημένα λιποσώματα μπορούν επίσης να μεταφέρουν μόρια DNA, siRNA, πρωτεϊνών κλπ., εμφανίζοντας εξαιρετικό φαρμακοκινητικό προφίλ.



Εικόνα 1.6: Δομή λιποσώματος (liposome) ως φορέα φαρμάκου.

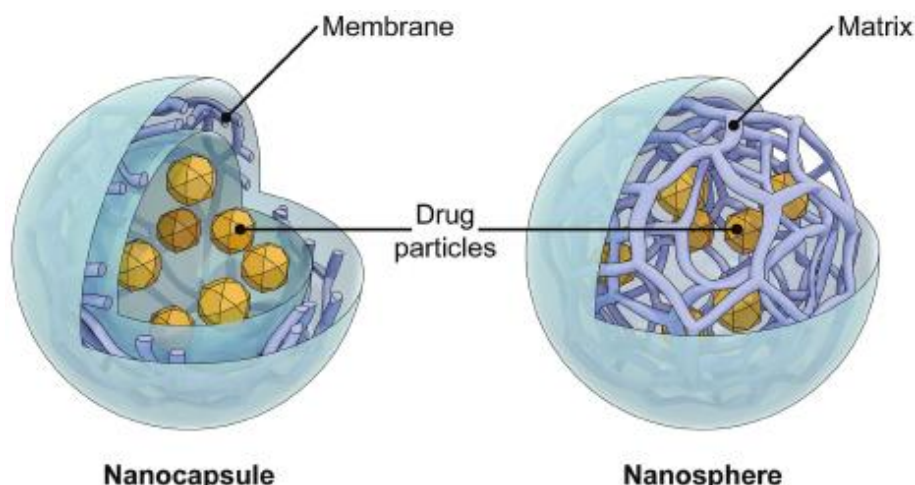
Τέλος, είναι βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα, ενώ παράλληλα έχουν την ικανότητα να παγιδεύουν υδρόφιλες ενώσεις στον πυρήνα τους και υδρόφοβα μόρια στη λιπιδική τους μεμβράνη (Wang, 2013).

1.3.2.3 Πολυμερικά Νανοσωματίδια (Polymeric NPs)

Πολυμερικά Νανοσωματίδια

Τα πολυμερικά νανοσωματίδια είναι κολλοειδή συστήματα με διάμετρο μικρότερη του 1 μm . Διακρίνονται σε νανοκάψουλες (nanocapsules) και νανοσφαίρες (nanospheres), ανάλογα με τη σύνθεσή τους. Σχηματίζονται από βιοσυμβατά και βιοαποικοδομήσιμα πολυμερή (Gref, 1194)

και συναρμολογούνται αυθόρμητα σε σχηματισμό μικκυλίου δομής πυρήνα-κελύφους, σε υδατικό περιβάλλον (Wang, 2013). Ο υγρός πυρήνας, συνήθως από λάδι ή νερό, στις νανοκάψουλες οδηγεί σε μια φυσαλιδώδη δομή, σε αντίθεση με τις νανοσφαίρες που είναι σωματίδια μήτρας (matrix particles), με ολόκληρη την μάζα τους να είναι στερεή. Και οι δύο τύποι πολυμερικών νανοσωματιδίων είναι ικανοί να εγκλωβίσουν υδρόφιλα και/ή υδρόφοβα μικρά μόρια φαρμάκου, καθώς και πρωτεΐνες και μακρομόρια νουκλεϊκού οξέος (Wang A. G.-M.). Το φάρμακο μπορεί να παγιδευτεί, να διασπαρεί, να διαλυθεί ή να προσροφηθεί στα νανοσωματίδια, ανάλογα με τους μηχανισμούς ενθυλάκωσης (Guteress, 2007). Συγκεκριμένα, στις νανοκάψουλες το φάρμακο ενθλακώνεται στην κοιλότητα του υγρού πυρήνα (Counneur, 1995) και στις νανοσφαίρες εγκλωβίζεται ή προσαρτάται ομοιόμορφα στην μήτρα του πολυμερούς (Singh, 2010).



Εικόνα 1.7: Σχηματική αναπαράσταση ενθυλάκωσης μορίων φαρμάκου σε νανοκάψουλα (nanocapsule) και νανοσφαίρα (nanosphere).

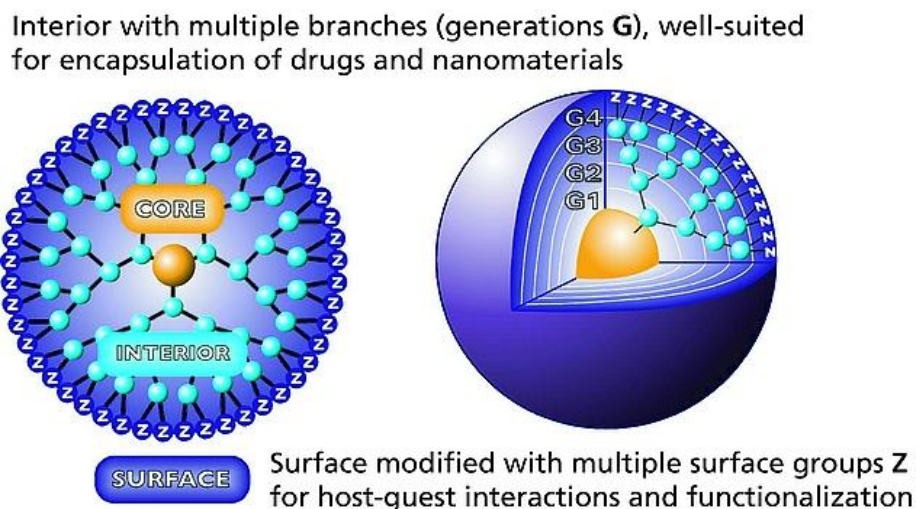
Πηγή: American Journal of Neuroradiology, “New Applications of Nanotechnology for Neuroimaging”, 2013

Το βασικότερο όμως πλεονέκτημα των πολυμερικών NPs είναι ότι επιτρέπουν την αργή και ελεγχόμενη απελευθέρωση του εκάστοτε φαρμάκου στις θέσεις-στόχους. Αναλυτικότερα, η αρχιτεκτονική τους δομή, τους προσδίδει την ικανότητα να μεταφέρουν με ασφάλεια και αποτελεσματικότητα την φαρμακευτική ουσία στα κύτταρα-στόχους, ενώ ενισχύοντάς τα με ειδικούς προσδέτες, πριν από την τελική τους συναρμολόγηση, έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να οδηγήσει στην αυξημένη πρόσληψη της ουσίας, οδηγώντας σε βελτιωμένα θεραπευτικά

αποτελέσματα. Όλα αυτά εδραιώνουν την θέση των πολυμερικών νανοσωματιδίων ανάμεσα στα πλέον λειτουργικά για στοχευμένη θεραπεία (Wang E. C., 2013).

Δενδριμερή (Dendrimers)

Πρόκειται για διακλαδισμένα μακρομόρια, κατασκευασμένα από φυσικά ή συνθετικά υλικά, συμπεριλαμβανομένων των αμινοξέων, των σακχάρων και των νουκλεοτιδίων. Αποτελούνται από έναν κεντρικό πυρήνα, μια σειρά από εσωτερικές διακλαδώσεις, καθώς και από μία επίσης διακλαδισμένη εξωτερική επιφάνεια (Wang, 2013). Το μεγάλο εύρος συνδυασμών των συστατικών τους έχει τη δυνατότητα να προσδίδει στα δενδριμερή μεγάλη ομοιομορφία και πολύ καλά καθορισμένο μέγεθος, σχήμα, πυκνότητα και μήκος διακλάδωσης, ενώ οι νανομετρικές τους διαστάσεις και η ευκολία παρασκευής και ενεργοποίησής τους, τα αναδεικνύει σε μια πολλά υποσχόμενη τάξη NPs για την μεταφορά φαρμάκων και γονιδίων. Τούτο ενισχύει και το γεγονός ότι είναι υδατοδιαλυτά και βιοσυμβατά, ενώ δεν απαιτείται βιοδιάσπαση για την απομάκρυνσή τους από την κυκλοφορία του αίματος μέσω των νεφρών, εφόσον το μικρό τους μέγεθος ελαχιστοποιεί κάθε εξωτερική παρέμβαση (Duncan, 2003).



Εικόνα 1.7: Σχηματική αναπαράσταση τυπικών δενδριμερών (Dendrimers). Στο εσωτερικό τους διακρίνονται ευκρινώς οι πολλαπλές διακλαδώσεις (G1, G2, G3, G4) καθώς και η ενθυλάκωση θεραπευτικών παραγόντων. Η επιφάνειά τους είναι συζευγμένη με λειτουργικές ομάδες (Z) με σκοπό την αλλαγή της λειτουργικότητας και της δραστηρότητάς τους.

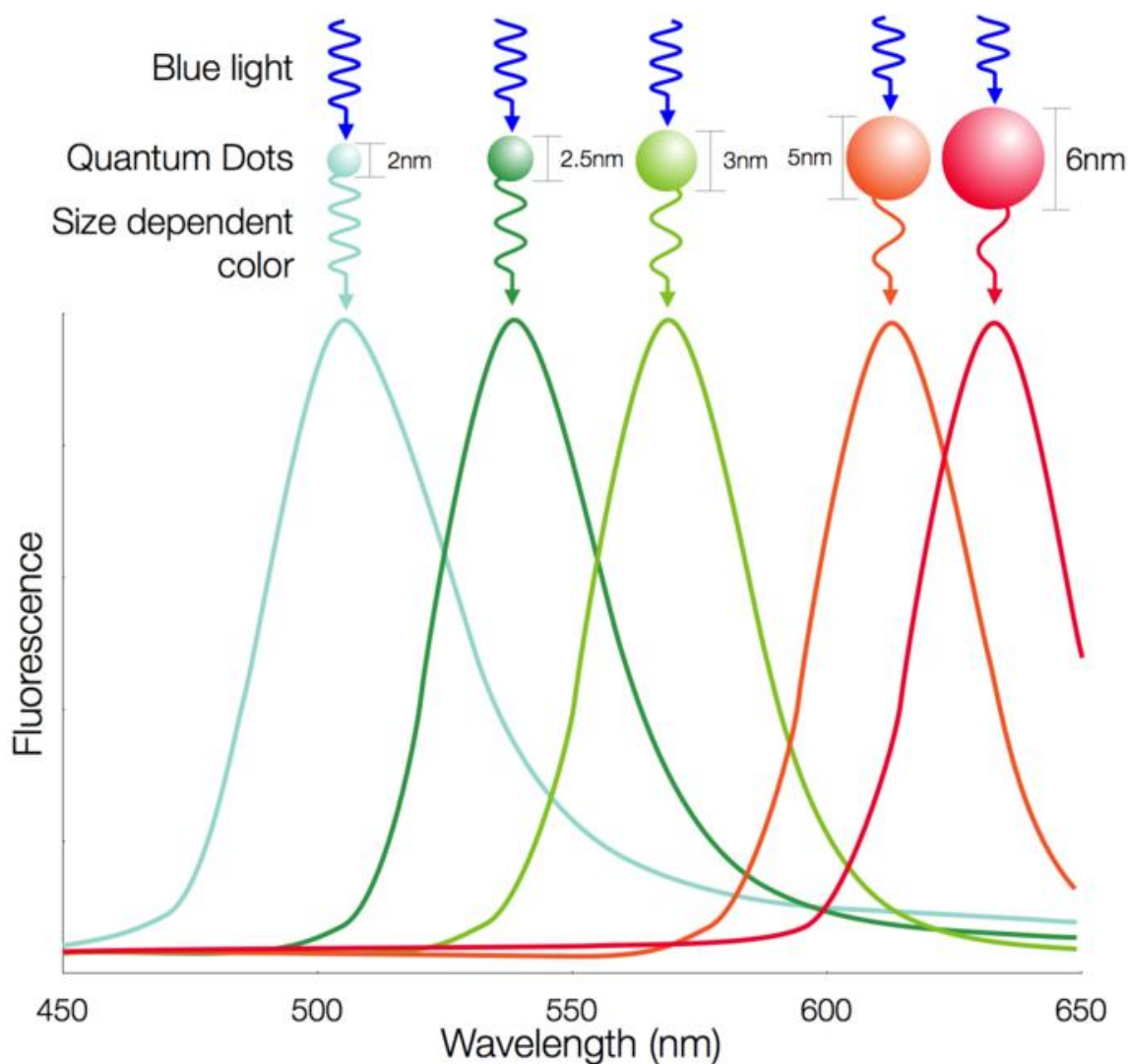
Οι ιδιότητές τους ελέγχονται από τις λειτουργικές ομάδες που προσδένονται στην εξωτερική τους επιφάνεια, μέσω ομοιοπολικής σύνδεσης ή ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Συγκεκριμένα, είναι δυνατόν να προσαρτώνται σε αυτήν χημικά μόρια, φάρμακα ή παράγοντες ανίχνευσης και απεικόνισης που αλλάζουν την λειτουργία τους, μετατρέποντάς τα από απλούς βιολογικούς αισθητήρες σε εξειδικευμένους μεταφορείς μορίων, φαρμάκων και γονιδίων. Επιπλέον, χάρη στην παρουσία των εσωτερικών κοιλιοτήτων της δομής τους, έχουν την ικανότητα να ενθυλακώνουν θεραπευτικούς παράγοντες και στο εσωτερικό του πυρήνα τους, μέσω χημικής σύνδεσης, δεσμών υδρογόνου ή/και υδρόφοβης αλληλεπίδρασης (Kumari, 2015).

1.3.2.4 Κβαντικές τελείες (Quantum dots, QDs)

Κβαντικές τελείες ή Κολλοειδείς ημιαγώγιμοι Νανοκρύσταλλοι

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι κβαντικές τελείες είναι «αδιάστατα» σωματίδια στη νανοκλίμακα, με μέγεθος μόλις μερικών νανομέτρων. Λόγω του εξαιρετικά μικρού μεγέθους τους, υπόκεινται στους νόμους της κβαντικής φυσικής, γεγονός που τους προσδίδει μοναδικές οπτικές και ηλεκτρονικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων των εκπομπών φωτός ρυθμιζόμενης έντασης, της ταυτόχρονης διέγερσης πολλαπλών χρωμάτων φθορισμού, της υψηλής φωτεινότητας σήματος, της φωτοσταθερότητας κλπ. (Jin, 2011). Τα ηλεκτρονικά χαρακτηριστικά των QDs καθορίζονται από το μέγεθος και το σχήμα τους, κάτι που πρακτικά σημαίνει ότι μπορούμε να ελέγξουμε το χρώμα του εκπεμπόμενου φωτός από μία κβαντική τελεία, απλά και μόνο αλλάζοντας το μέγεθός της.

Quantum Dot Size and Color



Εικόνα 1.8: Διάγραμμα διέγερσης φθορισμού QDs, στο οποίο φαίνεται ότι οι μεγαλύτερες κβαντικές τελείες απορροφούν φωτόνια με μικρότερη ενέργεια, εκπέμποντας προς το ερυθρό άκρο του ορατού φάσματος. Αντίθετα οι μικρότερου μεγέθους κβαντικές τελείες δίνουν φθορισμούς προς το μπλε άκρο.

Πηγή: What are Quantum Dots?,

Όπως γίνεται φανερό, τα QDs έχουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε χημικές και βιολογικές εφαρμογές, σε αντίθεση με τις παραδοσιακές φθορίζουσες οργανικές ενώσεις, λόγω της φωτοευαισθησίας τους, της χαμηλής έντασης σήματος και της φασματικής αλληλοεπικάλυψης. Αποτελούνται από έναν ημιαγώγιμο πυρήνα που προκύπτει από ενώσεις

των ομάδων II-VI, III-V και IV-IV του περιοδικού πίνακα (δηλ. CdTe, CdSe, PbSe, GaAs, GaN, InP, και InAs) και ημιαγώγιμο κέλυφος ευρείας ζώνης (π.χ. ZnS), ενώσεις που αυξάνουν την επιφάνειά τους και ενισχύουν την κβαντική τους απόδοση (Michalet, 2005). Χρησιμοποιούνται ως βιολογικοί ανιχνευτές σε εφαρμογές που αφορούν στη μοριακή ιστοπαθολογία, τη διάγνωση και την βιολογική απεικόνιση σοβαρών νόσων. Πολυάριθμες μελέτες έχουν αναφέρει επίσης, τη χρήση QDs για in vitro ή in vivo απεικόνιση δεικτών λεμφαδένων, καθώς και την λειτουργία τους ως ειδικοί ανιχνευτές και εξολοθρευτές καρκινικών όγκων κλπ. (Jin, 2011)

Παρόλα αυτά, στα σημαντικά τους μειονεκτήματα, που παρεμποδίζουν σοβαρά την εφαρμογή των κβαντικών τελειών για βιολογική έρευνα in vivo, είναι η ανησυχία για την τοξικότητα εκείνων των QDs που περιέχουν κάδμιο, μόλυβδο ή αρσενικό. Ως γνωστόν, τα τοξικά ιόντα βαρέων μετάλλων μπορούν εύκολα να διεισδύσουν στα βιολογικά συστήματα, στην περίπτωση που οι επιφάνειες τους δεν καλύπτονται επαρκώς από τα κελύφη, γεγονός που καθιστά την χρήση τους δυνητικά επικίνδυνα (Derfus, 2004).

Νανοσωματίδια πυριτίου (Silicon Nanoparticles, Si-NPs)

Ένας άλλος τύπος κβαντικών τελειών είναι τα νανοσωματίδια πυριτίου (Si-NPs), των οποίων οι ιδιότητες είναι μοναδικές, όταν τα μεγέθη τους είναι κάτω των 10nm. Παρόμοια με τους προκατόχους τους, τα QDs πυριτίου βρίσκονται σε πλεονεκτική θέση έναντι των παραδοσιακών φθορίζουσών οργανικών χρωστικών, καθώς παρουσιάζουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως αντοχή στο «ξεθώριασμα» και μεγάλο εύρος εκπομπής στο ορατό φάσμα, με σχετικά υψηλές κβαντικές αποδόσεις (Selvan, 2010). Επιπλέον, εξαιτίας της μη τοξικής και φιλικής προς το περιβάλλον φύσης του πυριτίου, τα SiQDs χρησιμοποιούνται ως ανιχνευτές φθορισμού για βιοαποτύπωση (Selvan, 2010). Έχει αναφερθεί ότι για in vivo εφαρμογές τα SiQDs αποικοδομούνται κυρίως σε πυριτικό οξύ, το οποίο μπορεί να απεκκρίνεται μέσω των ούρων (Park, 2009), ενώ για in vitro χρήση, οι SiQDs θεωρούνται πολύ πιο ασφαλείς από τις κβαντικές τελείες που περιέχουν Cd (Gao, 2003).

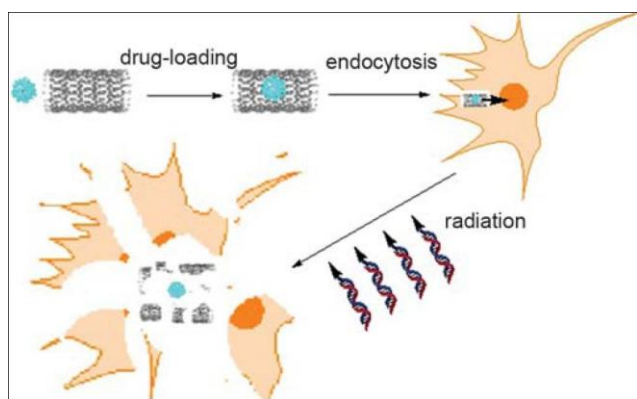
1.3.2.5 Νανοσωματίδια άνθρακα (Carbon-based NPs)

Νανοσωματίδια άνθρακα

Οι νανοδομές με βάση τον άνθρακα, οι οποίες διακρίνονται σε νανοϊνές (carbon nanofibers, CNF), νανοσωλήνες (carbon nanotubes, CNT), οξείδια γραφενίου (graphene oxide, GO) και φουλλερένια (fullerenes), είναι μια ακόμη κατηγορία διατάξεων της νανοκλίμακας με σημαντική προσφορά στην ιατρική και την βιολογία, κυρίως λόγω της αντιβακτηριδιακής τους δράσης. Πρόκειται για ανθρακοδομές με υψηλή μηχανική αντοχή επιφανείας, που ξεχωρίζουν για την ευκολία παρασκευής τους, καθώς και για τις πολυάριθμες δυνατότητες φυσικής ή/και χημικής σύζευξής τους (Bekyarova, 2005).

Τα πιο μελετημένα και με τις περισσότερες εφαρμογές νανοσωματίδια άνθρακα είναι οι νανοσωλήνες. Πρόκειται για κυλινδρικές δομές γραφίτη νανοειδούς μεγέθους, οι οποίες χωρίζονται σε δύο υποκατηγορίες: στους νανοσωλήνες με ένα τοίχωμα (Single Walled Carbon Nanotube, SWCNT) και διάμετρο μικρότερη από 5nm και στα CNTs με πολλαπλά τοιχώματα (Multi-Walled Carbon Nanotube, MWCNT), τα οποία μπορεί να έχουν διαμέτρους ίσες ή μεγαλύτερες από 100nm. Παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον χάρη στην χαμηλού κόστους παρασκευή τους και στην έντονη τάση τους να σχηματίζουν συσσωματώματα, εξαιτίας των δυνάμεων van-der-Waals (He, 2013).

Οι κυριότερες εφαρμογές των CNTs στην ιατρική περιλαμβάνουν την μεταφορά φαρμάκων, βιομορίων και γονιδίων σε κύτταρα ή όργανα. Χρησιμοποιούνται επίσης για την αναγέννηση ιστών, όπως επίσης ως βιολογικοί αισθητήρες διάγνωσης. Ο μηχανισμός δράσης τους προϋποθέτει την πρόσδεση του φαρμάκου (ή μορίου ή γονιδίου) στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου νανοσωλήνα, ο οποίος στη συνέχεια εισάγεται στο σώμα των ασθενών από το στόματος, είτε με ένεση ή απευθείας στο σημείο στόχο, καθοδηγούμενο προς αυτό με διάφορους



τρόπους, όπως για παράδειγμα με την εφαρμογή ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου ή με την χρήση ακτινοβολίας. Η κάψουλα CNT εισέρχεται στο κύτταρο, διαχέοντας κατόπιν την θεραπευτική ουσία του χορηγούμενου φαρμάκου (He, 2013)

Εικόνα 1.9: Σχηματική αναπαράσταση στοχευμένης μεταφοράς φαρμάκου και ενδοκυτταρικής διάχυσής του, με την χρήση νανοσωλήνων άνθρακα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΑ

Γενικά

Εξερευνώντας τον νανόκοσμο, μπορεί κανείς να διαπιστώσει τη δυναμική του. Διατάξεις και συστήματα με σχεδόν μηδενικές διαστάσεις γίνονται πολύτιμα εργαλεία της επιστήμης, ανοίγοντας νέους ορίζοντες στην πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία μη ιάσιμων, μέχρι τούδε, ασθενειών. Νανοσωματίδια παντός σχηματισμού, μορφολογίας, τρόπου λειτουργίας και σύνθεσης, επιστρατεύονται στην μάχη της έρευνας, εξασφαλίζοντας ελπιδοφόρα αποτελέσματα τόσο για τους επιστήμονες, όσο και για τους πάσχοντες. Οι συμβατικές θεραπείες, οι απεικονιστικές και διαγνωστικές μέθοδοι εγκαταλείπονται, λόγω χαμηλής αποτελεσματικότητας, σοβαρών παρενεργειών, μεγάλου κόστους και μακροχρόνιας αναμονής για επιθυμητά αποτελέσματα.

Πιο αναλυτικά, στις συμβατικές φαρμακομορφές (από του στόματος, σε ενέσιμη μορφή ή σε υπόθετο), τα θεραπευτικά μόρια διανέμονται σε ολόκληρο τον οργανισμό, μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας τους αίματος. Ως εκ τούτου, σε περίπτωση αποτυχίας επίτευξης του στόχου τους, παραμένουν στον οργανισμό, προκαλώντας ανεπιθύμητες παρενέργειες, συχνά σοβαρές και επικίνδυνες. Επιπλέον, έχουν σύντομη ημιζωή πλάσματος, παρουσιάζουν έλλειψη σταθερότητας στον ορό, αδιαλυτότητα στο νερό και ανοσογονικότητα, με αποτέλεσμα να οδηγούνται σε ταχεία αποικοδόμηση και αποτυχία. (Sun, 2014) Η καινούργια γενιά φαρμάκων, βασισμένη στη Νανοτεχνολογία, έρχεται να αντιμετωπίσει αυτά τα προβλήματα και να εξασφαλίσει ακριβείς και ασφαλείς διαγνώσεις, στοχευμένες και τελεσφόρες θεραπείες.

Στο παρόν κεφάλαιο συζητείται η χρήση των νανοσωματιδίων ως φορείς φαρμάκων σε κύτταρα-στόχους και ως απεικονιστικοί και διαγνωστικοί παράγοντες σοβαρών παθήσεων, ενώ παράλληλα, παρουσιάζονται τα γενικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων προς χρήση, στην διαγνωστική και θεραπευτική ιατρική. Συγκεκριμένα, περιγράφεται η ιδιοσυστασία τους, η δομή και ο μηχανισμός λειτουργίας τους, καθώς και οι κανόνες σχεδιασμού και σύνθεσής τους,

προκειμένου οι σύγχρονοι νάνο-θεραπευτικοί παράγοντες, να είναι ασφαλείς και αποτελεσματικοί στην εκτέλεση του σκοπού για τον οποίο προορίζονται.

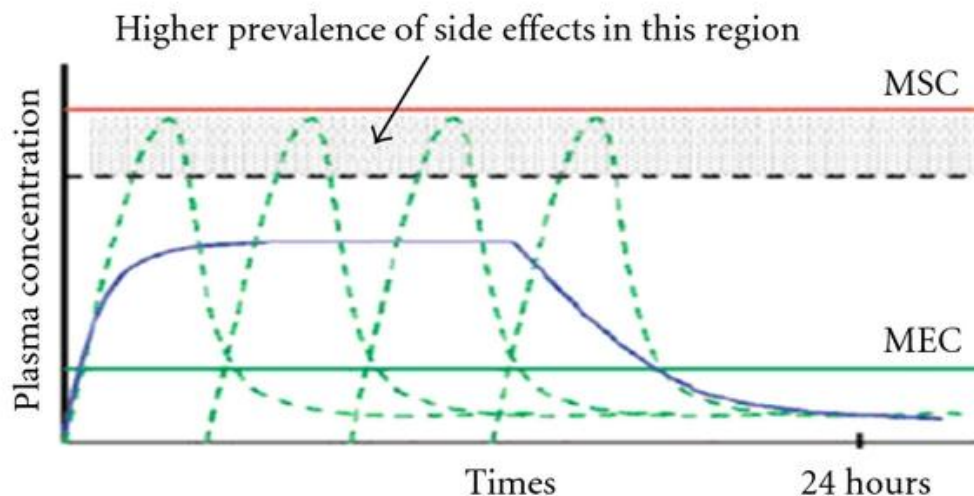
2.1 Ελεγχόμενη χορήγηση και αποδέσμευση φαρμάκων

Κατά την χορήγηση ενός «παραδοσιακού» φαρμάκου σε κάποιον ασθενή, κάθε βιολογική επενέργειά του σχετίζεται με την αλληλεπίδραση της δραστικής ουσίας με τους ειδικούς υποδοχείς του περιβάλλοντος εφαρμογής της. Τα συμπεράσματα που εξάγονται, σχετικά με την αποτελεσματικότητα και τις παρενέργειές της, συνοψίζουν τις φαρμακολογικές της ιδιότητες. Ωστόσο, κάθε παρόμοια συμβατική θεραπεία κινδυνεύει να χαρακτηριστεί ατελέσφορη και δυνητικά επικίνδυνη, αν η φαρμακευτική ουσία δεν εφαρμοσθεί εκλεκτικά στην κατάλληλη περιοχή και αν δεν χορηγηθεί στην απαραίτητη συγκέντρωση και με ελεγχόμενο ρυθμό. Κάτι τέτοιο όμως, είναι πρακτικά δύσκολο να επιτευχθεί, καθόσον τα διαθέσιμα μέσα δεν είναι σε θέση να επιτύχουν την ανεξάρτητη από τον χρόνο ή την συγκέντρωση εφαρμογή των φαρμακευτικών ουσιών, παράλληλα μάλιστα με την εντοπισμένη εφαρμογή σε συγκεκριμένο τόπο δράσης.

Η ανάγκη αντιμετώπισης αυτών των προβλημάτων οδήγησε στην αναζήτηση νέων τρόπων χορήγησης φαρμάκων, με απρόσκοπτη λειτουργία και βελτιωμένα θεραπευτικά αποτελέσματα. Με την βοήθεια της Νανοτεχνολογίας κάτι τέτοιο δεν είναι αδύνατον. Πράγματι, η έρευνα σχετικά με την ορθολογική και στοχευμένη παράδοση των φαρμακευτικών και των διαγνωστικών παραγόντων βρίσκεται στην πρώτη γραμμή και πλέον μπορούμε να κάνουμε λόγο για συστήματα ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων (drug delivery systems), γνωστά και ως νανοφάρμακα (nanodrugs ή nanomedicines) ή συστήματα στοχευμένης παράδοσης (targeted delivery systems), τα οποία βρίσκονται σε πλεονεκτική θέση έναντι των παραδοσιακών θεραπειών για τους παρακάτω λόγους (Οπουε, 2014):

- ◆ Δρουν εντοπισμένα στον πάσχοντα ιστό ή όργανο
- ◆ Καθορίζουν με ακρίβεια τη συγκέντρωση της θεραπευτικής ουσίας
- ◆ Διατηρούν τη δραστική ουσία στα επιθυμητά επίπεδα
- ◆ Ελέγχουν τη διάρκεια δράσης του θεραπευτικού παράγοντα στον οργανισμό
- ◆ Αυξάνουν την βιοσυμβατότητα και σταθερότητα των φαρμάκων

- ♦ Ελαχιστοποιούν τις δυσάρεστες παρενέργειες και ελαττώνουν την τοξικότητα (Onoue, 2014)



Εικόνα 2.1: Γραφική παράσταση συγκέντρωσης φαρμάκου στο αίμα σε συνάρτηση με τον χρόνο. Με την στικτή γραμμή (---) αναπαρίσταται η συμβατική μέθοδος χορήγησης, ενώ με την συνεχόμενη (—), η αντίστοιχη ελεγχόμενη χορήγηση. Στο ίδιο σχήμα φαίνεται ότι η συγκέντρωση του φαρμάκου διατηρείται μεταξύ της ελάχιστης αποτελεσματικής συγκέντρωσης (Minimum Effective Concentration, MEC) και της μέγιστης ασφαλούς συγκέντρωσης (Maximum Safe Concentration MSC) για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, εξασφαλίζοντας έτσι διατηρούμενη θεραπευτική δράση.

Πηγή: Osmotic drug delivery system as a part of modified release dosage form, 2012

Τα νέα λειτουργικά συστήματα νανοφαρμάκων είναι σε θέση να προσφέρουν ενισχυμένη βιοδιαθεσιμότητα των από του στόματος ληφθέντων ουσιών, να παρατείνουν τον χρόνο ημίσειας ζωής των ενέσιμων φαρμάκων (με μείωση της ανοσογονικότητας) και να εξασφαλίσουν στοχευμένη διάθεση σε ιστούς και όργανα. Τα οφέλη από την αντικατάσταση των συμβατικών θεραπειών, όπως είναι προφανές, είναι η μείωση της δοσολογίας και της συχνότητας χορήγησης του φαρμάκου, με παράλληλη μεγιστοποίηση των φαρμακολογικών επιδράσεων και ελαχιστοποίηση των συστηματικών παρενεργειών. Ασφαλώς, ο μεγαλύτερος στόχος είναι η καλύτερη θεραπευτική συμμόρφωση και έκβαση της ασθένειας.

2.2 Κατηγορίες συστημάτων ελεγχόμενης χορήγησης φαρμάκων

Ανάλογα με τον τρόπο αποδέσμευσης των φαρμάκων, τα συστήματα που την επιτελούν διακρίνονται σε: συστήματα προκαθορισμένου ρυθμού αποδέσμευσης (predetermined-release rate systems), συστήματα ενεργοποιούμενης αποδέσμευσης, (activation-modulated systems), συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης από μηχανισμό ανάδρασης (feed back- regulated systems) και, τέλος, σε συστήματα στόχευσης (drug targeting systems).

2.2.1 Συστήματα προκαθορισμένου ρυθμού αποδέσμευσης (predetermined-release rate systems)

Τα συστήματα προκαθορισμένου ρυθμού αποδέσμευσης σχεδιάζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να εξασφαλίζεται η ελεγχόμενη αποδέσμευση της χορηγούμενης φαρμακευτικής ουσίας, ήτοι να διατίθεται με συγκεκριμένη συχνότητα και διάρκεια. Τούτο στοχεύει στη διατήρηση της συγκέντρωσής της σε σταθερά επίπεδα στην κυκλοφορία του αίματος ή στον ιστό-στόχο και επιτυγχάνεται με κατάλληλη σχεδίαση του συστήματος, η οποία βασίζεται στην ελεγχόμενη απελευθέρωση του φαρμάκου είτε με διάχυση είτε με διείσδυση του διαλύτη (μέσο εμβάπτισης). Τα συστήματα που σχεδιάζονται με βάση τον μηχανισμό διάχυσης, διακρίνονται σε δύο επιμέρους κατηγορίες: α) τα συστήματα μεμβράνης (membrane ή reservoir systems) και β) στα συστήματα μήτρας (matrix systems). Ειδικότερα, τα πρώτα διαθέτουν φραγμό τύπου πολυμερικής μεμβράνης που περιβάλλουν το σύστημα, ενώ τα δεύτερα ενθυλακώνουν το φάρμακο, διαλυμένο ή διασπαρμένο, εντός της πολυμερικής ή κηρώδους μήτρας τους (Voulgari, 2016).

2.2.2 Συστήματα ενεργοποιούμενης αποδέσμευσης (activation-modulated systems)

Αυτή η κατηγορία συστημάτων θεωρείται πιο «έξυπνη», καθόσον η αποδέσμευση της φαρμακευτικής ουσίας επιτυγχάνεται κατόπιν «σήματος» που λαμβάνει το σύστημα από κάποια εσωτερική βιολογική, φυσική ή χημική μεταβολή ή από εξωτερικά παρεχόμενη ενέργεια. Συγκεκριμένα, τα συστήματα ενεργοποιούμενης αποδέσμευσης είναι ικανά να «μεταφράσουν» μεταβολές του PH, της ωσμωτικής ή υδροδυναμική πίεσης, να εντοπίσουν βιοχημικές μεταβολές και να αξιολογήσουν διάφορους τύπους εφαρμοζόμενης ενέργειας (π.χ. ηλεκτρική, μαγνητική, μηχανική, ακτινοβολία, θερμότητα, υπερήχους κλπ.), πυροδοτώντας έτσι την αποδέσμευση του φαρμάκου (Sun, 2014).

2.2.3 Συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης από μηχανισμό ανάδρασης (feed back-regulated systems)

Πρόκειται για συστήματα τρίτης γενιάς, τα οποία ελέγχουν την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας με τη χρήση βιοχημικά ανταποκρινόμενων αισθητήρων. Οι αισθητήρες αυτοί, ανιχνεύοντας τη συγκέντρωση βιοχημικών ουσιών-ενεργοποιητών μέσα στον οργανισμό, δίνουν άμεση εντολή έναρξης λειτουργίας του συστήματος, οπότε και απελευθερώνεται ελεγχόμενα, σε ποσότητα και ρυθμό, η φαρμακευτική ουσία (Voulgari, 2016).

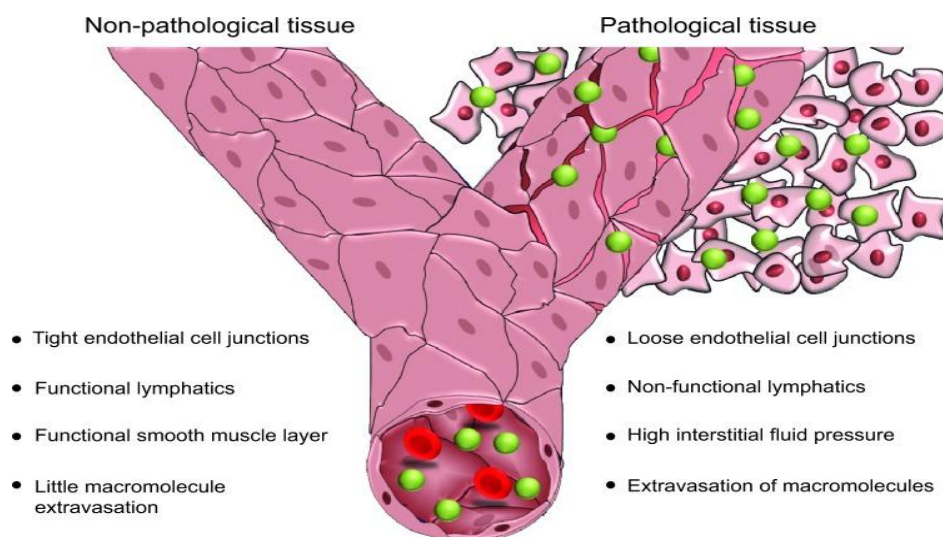
2.2.4 Συστήματα στόχευσης (drug targeting systems)

Όπως γίνεται φανερό από τον ίδιο τον όρο, τα συστήματα στόχευσης επιχειρούν την αποδέσμευση του θεραπευτικού παράγοντα μόνο στα επιθυμητά κύτταρα-ιστούς ή όργανα-στόχους, βελτιώνοντας παράλληλα τον θεραπευτικό δείκτη και περιορίζοντας τις ανεπιθύμητες ενέργειες στο ελάχιστο. Τέτοιες μπορεί να είναι η τοξικότητα των χορηγούμενων φαρμάκων, και δη των αντικαρκινικών, και η καταστροφή υγιών κυττάρων που βρίσκονται στο περιβάλλον δράσης του φαρμάκου. Τα drug targeting systems δομούνται, κυρίως, από τέσσερα μέρη: α) τη δραστική ουσία, β) μία μη ανοσολογική-βιοδιασπώμενη πολυμερική αλυσίδα, στην οποία έχει προσδεθεί μια κατευθυντήρια ομάδα που προσανατολίζει το σύστημα στην περιοχή-στόχο, γ) ένα διαλυτοποιητή, ο οποίος βοηθά στη διάσπαση της θεραπευτικής ουσίας στα βιολογικά υγρά και δ) έναν βραχίονα με χημικούς δεσμούς, στους οποίους δεσμεύονται τα μόρια του φαρμάκου, χωρίς να είναι δυνατή η διάσπασή τους, παρά μόνο από ένζυμα που βρίσκονται στα κύτταρα-στόχους (Leong, 1987) (Manish P. Patel, 2010).

Όσον αφορά στην εκλεκτική διάθεση του συστήματος στον ιστό στόχο, αυτή λαμβάνει χώρα με δύο τρόπους, είτε «παθητικά» (passive targeting) είτε «ενεργητικά» (active targeting). Η παθητική μεταφορά εκμεταλλεύεται τη διαφορετική «αρχιτεκτονική» δομή των αγγείων μεταξύ υγιών και παθολογικών ιστών-στόχων. Για να γίνει καλύτερα κατανοητό, αρκεί να αναφερθούμε στην περίπτωση συμπαγών όγκων, οι οποίοι, ως γνωστόν, παρουσιάζουν ιδιαίτερα παθοφυσιολογικά χαρακτηριστικά, όπως για παράδειγμα ταχεία αγγειογένεση του αναπτυσσόμενου όγκου, γεγονός που δεν παρατηρείται σε φυσιολογικούς ιστούς. Επειδή όμως, αυτή η δομική μορφή των αγγείων παρουσιάζει ατέλειες (π.χ. κακή λεμφική παροχέτευση, διαπερατά αιμοφόρα αγγεία, κλπ.), ο όγκος πληρούται με συστατικά του πλάσματος του αίματος. Στηριζόμενα στην περιγραφείσα ελαττωματική δομή, τα φάρμακα μεταφέρονται στον

όγκο, όπου και εξαγγειώνονται αποκλειστικά. Ο μηχανισμός αυτός, γνωστός και ως φαινόμενο Ενισχυμένης Διαπερατότητας και Κατακράτησης (EPR-Enhanced Permeability and Retention Effect) αποτελεί τη βάση παθητικής μεταφοράς θεραπευτικών ουσιών στους καρκινικούς όγκους (Sun, 2014).

Αντίθετα, στην ενεργή μεταφορά το σύστημα στόχευσης φέρει το ίδιο μια κατευθυντήρια μονάδα, όπως για παράδειγμα ένα αντίσωμα, πεπτίδιο, ολιγονουκλεοτίδιο, κλπ., η οποία αναγνωρίζεται από ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης του ιστού-στόχου και με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η εισδοχή τους στο κύτταρο, όπου και εναποθέτουν την φαρμακευτική ουσία. Η ενεργητική στόχευση ωστόσο, δεν αποτελεί εύκολο δρόμο για την χορήγηση φαρμάκων και αυτό γιατί είναι δύσκολο να υπάρξουν εξειδικευμένες και μη ανοσολογικές κατευθυντήριες μονάδες (Voulgari, 2016).



Εικόνα 2.2: Απεικόνιση του μηχανισμού Ενισχυμένης Διαπερατότητας και Κατακράτησης (Enhanced Permeability and Retention Effect, EPR), στην οποία φαίνεται η μορφολογία του φυσιολογικού ιστού (αριστερά) και του παθολογικού (δεξιά), αντίστοιχα. Φαίνεται ξεκάθαρα ότι ο EPR προκύπτει από χαλαρές ενδοθηλιακές ενώσεις, που επιτρέπουν την εξαγγείωση μακρομορίων και μη λειτουργικών λεμφοειδών, με αποτέλεσμα την παρατεταμένη συγκράτηση μακρομορίων εντός του παθολογικού ιστού. Αυτός ο ιστός παρουσιάζει επίσης, υψηλή πίεση ενδιάμεσου υγρού και έλλειψη λειτουργικού στρώματος λείου μυός που περιβάλλει τα αιμοφόρα αγγεία.

Πηγή: Nanomedicine for drug targeting: Strategies beyond the enhanced permeability and retention effect, 2014

2.3 Νανοσωματίδια ως φορείς φαρμάκων

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι διαστάσεις των νανοσωματίδιων είναι σε τάξη μεγέθους συγκρίσιμες με τις διαστάσεις των βιολογικών μορίων, όπως είναι το κύτταρο (~10-100nm), οι

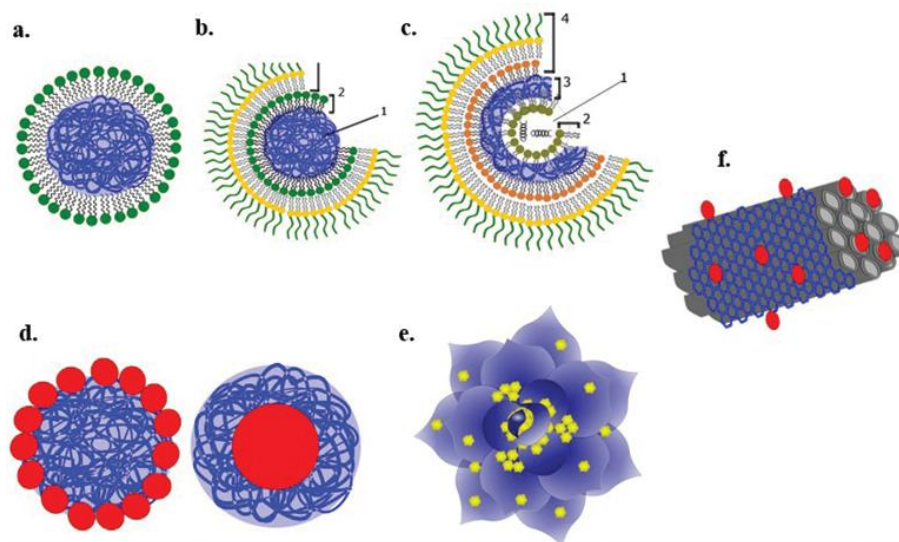
πρωτεΐνες (~5-50nm), οι ιοί (~20-450nm), τα γονίδια (μήκος ~10-100nm, πλάτος ~2nm), οι υποδοχείς στην επιφάνεια της πλασματικής μεμβράνης, και τα ένζυμα. Το γεγονός αυτό τα κάνει ευέλικτα και ικανά να προσεγγίσουν και να αλληλεπιδράσουν μαζί τους, κάτι που δεν μπορεί να συμβεί με μεγαλύτερα σε μέγεθος σωματίδια. Η μεγάλη αναλογία επιφάνειας προς όγκο, τους προσδίδει επιπλέον, μοναδικές οπτικές, ηλεκτρονικές και μαγνητικές ιδιότητες και επιτρέπει την τροποποίηση τους, με σκοπό την βελτίωση των φαρμακοκινητικών τους ιδιοτήτων. Έχουν τη δυνατότητα να μεταφέρουν επιτυχώς μόρια φαρμάκου, δεσμεύοντας ή απορροφώντας τα στην επιφάνειά τους και εγκατακινώντας τα σε λιπίδια ή πολυμερή, ή διαλύοντάς τα σε μήτρα.

Μέχρι σήμερα, έχουν αναπτυχθεί ποικίλα συστήματα Νανοφαρμάκων για διαφορετικές οδούς χορήγησης, τα οποία περιλαμβάνουν την χρήση νανοσωματιδίων, παρασκευασμένων από οργανικά ή ανόργανα υλικά, όπως δενδριμερών, νανοκρυστάλλων, λιποσωμάτων, πολυμερικών NPs, κβαντικών τελειών κ.α. Η λογική και ο σχεδιασμός τους υπόκεινται σε συγκεκριμένους περιορισμούς και αυτό γιατί στοχεύουν στην βελτίωση της αποτελεσματικότητάς τους, στην ενίσχυση των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων, και στην τελειοποίηση του φαρμακοκινητικού-φαρμακοδυναμικού τους προφίλ, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται η μέγιστη δυνατή ασφάλεια κατά την χορήγησή τους (Onoue, 2014).

2.4 Υβριδικοί νανοφορείς

Στο πρώτο κεφάλαιο αναλύθηκαν διεξοδικά τα νανοσωματίδια που είναι κατάλληλα για ιατροβιολογικές εφαρμογές. Θα ωφελούσε, ωστόσο, να γίνει αναφορά και σε μια ακόμη κατηγορία νανοφορέων, η οποία διαφέρει σημαντικά από τα νανοσυστήματα που έχουν ήδη περιγραφεί. Πρόκειται για τους υβριδικούς νανοφορείς, δηλ. για τα υπερμοριακά συστήματα ειδικά σχεδιασμένων νανοσωματιδίων, που είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού οργανικών και ανόργανων ενώσεων και υλικών, κατάλληλα επιλεγμένων, ώστε να συνδυάζουν τις ιδιότητες και των δύο κατηγοριών. Ο σκοπός της σύνθεσής τους δεν είναι άλλος από την στόχευση καρκινικών όγκων, την μεταφορά θεραπευτικών ενώσεων και γονιδίων σε κύτταρα ή ιστούς-στόχους, καθώς και την εναπόθεση σε αυτά σκιαγραφικών παραγόντων. Όσα από αυτά χρησιμοποιούνται ως συστήματα χορήγησης φαρμάκων, έχουν ιδανικά μέγεθος μικρότερο από 200nm, ενώ για την σύνθεσή τους γίνεται χρήση ποικίλων υλικών, μορίων και ενώσεων, όπως

πολυμερών, λιπιδίων, ιόν, αλλοτροπικών μορφών άνθρακα και συνδυασμούς οργανικών και ανόργανων πρώτων υλών (Wu, 2002).



Εικόνα 2.3: Τύποι υβριδικών νανοφορέων με διαφορετική μορφολογία και δομικά στοιχεία: α) υβριδικό νανოსωματίδιο πολυμερικού πυρήνα-λιπιδικού κελύφους, β) τριπλής στοιβάδας υβριδικά πολυμερικά-λιπιδικά νανοςωματίδια, αποτελούμενα από πολυμερικό πυρήνα (1) και διπλή λιπιδική στοιβάδα (2,3), γ) τετραπλής στοιβάδας υβριδικό λιπιδικό-πολυμερικό νανοςωματίδιο, αποτελούμενο από κοίλο πυρήνα (1) που καλύπτεται από αντίστροφη επιφανειοδραστική ουσία (2), πολυμερικό κέλυφος (3) και εξωτερικά κελύφη διπλής λιπιδικής στοιβάδας (4). (δ) υβρίδιο οργανικού πυρήνα-ανόργανου κελύφους και ανόργανου πυρήνα-οργανικού κελύφους, (ε) ανόργανα (μεταλλικά)-πρωτεϊνούχα υβριδικά νανοςωματίδια, και (φ) επικαλυμμένα με οξείδιο του γραφενίου μεσοπορώδη πυριτικά-ανόργανα υβριδικά νανοςωματίδια.

Πηγή: Hybrid Nano-carriers for Potential Drug Delivery, 2017

2.5 Γενικά φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά Νανοφαρμάκων

Έχει γίνει σαφές ότι τα νανοφάρμακα έχουν πολλά φαρμακοκινητικά πλεονεκτήματα και συνεπώς, μεταβάλλοντας τις βιοφαρμακευτικές τους ιδιότητες, μπορούν να μετατραπούν σε μια πολλά υποσχόμενη κατηγορία θεραπευτικών συστημάτων. Σε αυτό συντείνει και το γεγονός ότι οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες (μέγεθος, επιφανειακό φορτίο, υδροφοβία, κλπ.) επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά απορρόφησης των βλεννογόνων, με αποτέλεσμα τα μικρότερα νανοφάρμακα να παρουσιάζουν υψηλότερη διακυτταρική πρόσληψη, μέσω των επιθηλίων, σε σχέση με τα μεγαλύτερα (Petros, 2010; Roger, 2010; Jain, 2008; Francis, 2005).

Τα νανοσωματίδια μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα μέσω της διαδικασίας ενδοκυττάρωσης, συμπεριλαμβανομένης της ενδοκυττάρωσης μέσω καναλιών και πρωτεϊνικών υποδοχέων κλαθρίνης, πινοκυττάρωσης, κλπ. (Vega-Villa, 2008). Αντίθετα, τα μεγαλύτερα σε μέγεθος σωματίδια μπορούν να οψωνοποιούνται γρήγορα και να απομακρύνονται από την κυκλοφορία του αίματος μέσω των μακροφάγων του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (Reticuloendothelial System, RES).

Κατά τον σχεδιασμό των νανοσωματιδίων, λαμβάνεται υπόψιν η ανάγκη ελαχιστοποίησης της πιθανότητας οψωνοποίησής τους, ώστε να παραταθεί η κυκλοφορία τους στο αίμα κατά την κλινική χορήγηση. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την επιφανειακή επικάλυψη των νανοσωματιδίων με υδρόφιλα πολυμερή/επιφανειοδραστικές ουσίες και/ή με τη σύνθεση νανοσωματιδίων με βιοαποικοδομήσιμα συμπλοκομερή, τα οποία να φέρουν υδρόφιλα τμήματα, όπως για παράδειγμα πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG), πολυαιθυλενοξείδιο, πολοξαμερές, πολοξαμίνη και πολυσορβικό 80 (Tween 80) (des Rieux, 2006). Η επιφανειακή τροποποίηση των νανοφαρμάκων, με την χρήση ειδικών πρωτεϊνών, αντισωμάτων και άλλων βιομορίων, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον σχεδιασμό φαρμάκων που δρουν επιλεκτικά σε συγκεκριμένους ιστούς, παρέχοντας βελτιωμένο θεραπευτικό δυναμικό και μειωμένες παρενέργειες, ειδικά σε ορισμένα αντικαρκινικά φάρμακα.

Ακόμη ένα αξιοποιήσιμο χαρακτηριστικό των νανοφαρμάκων είναι το γεγονός ότι εκείνα που φέρουν θετικό επιφανειακό φορτίο μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα αρνητικά φορτία της βλεννίνης, λόγω περίσσειας σε θεϊκό σιαλικό οξύ και σάκχαρα, οδηγώντας σε αυξημένη μεταφορά βλέννας και επίσης αυξημένη εσωτερίκευση από επιθηλιακά κύτταρα (Roger, 2010). Η διακυτταρική μεταφορά παγιδευμένων φαρμάκων σε νανοσωματίδια μπορεί να επιτευχθεί ακόμη, με την προσθήκη στην επιφάνεια τους ενισχυτών διαπερατότητας μεμβράνης ή προσδετών που αναγνωρίζονται από υποδοχείς, οι οποίοι εκφράζονται στην κυτταρική μεμβράνη (Jain, 2008), (Francis, 2005), (Mori, 2004).

Εκτός όμως από τη διακυτταρική μεταφορά, τα εφοδιασμένα με βιοσυγκολλητικά πολυμερή ή χηλικούς παράγοντες βιοφάρμακα, θα μπορούσαν να ενισχύσουν την παρακυτταρική μεταφορά παγιδευμένων φαρμάκων, μέσω ρύθμισης των στενών συνδέσεων (tight junctions) μεταξύ γειτονικών κυττάρων (Shahbazi, 2013), (Chuang, 2013).

Γενικά, τα συστήματα φαρμάκων που χρησιμοποιούν νανοσωματίδια σχεδιάζονται για να χορηγούνται σε ενέσιμη μορφή, διαδερμικά ή από του στόματος. Πρόσφατες μελέτες όμως,

έχουν αποδείξει ότι εισπνεόμενα φάρμακα με νανοσωματίδια έχουν επίσης πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα και αυτό γιατί αυξάνουν τους χρόνους παραμονής του φαρμάκου στον πνεύμονα και παρεμποδίζουν την απομάκρυνσή τους μέσω των βλεοννογόνων, πριν από την αποικοδόμησή τους (Opoue S. Y., 2014).

2.6 Εκτίμηση ασφαλείας Νανοφαρμάκων

Ενώ τα νανοφάρμακα εμφανίζουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές θεραπείες ωστόσο, υπάρχει κίνδυνος να εμφανίσουν τοξικότητα στα έμβια συστήματα, λόγω της ικανότητάς τους να διαπερνούν τις μεμβράνες των βιομορίων και να παρεμβαίνουν στις βασικές μεταβολικές αντιδράσεις των κυττάρων. Και ενώ αναμένεται τα ίδια τα νανοσωματίδια να είναι σε θέση να περιορίσουν την τοξικότητα των χημειοθεραπευτικών ή άλλων φαρμάκων με στενό θεραπευτικό δείκτη, ωστόσο, πολλές μελέτες *in vitro* και *in vivo* έδειξαν ότι ορισμένα από αυτά έχουν επιδείξει τοξικότητα στα έμβια συστήματα, προκαλώντας αλλεργική αντίδραση ή φλεγμονή, βλάβη των εγκεφαλικών κυττάρων και ανεπιθύμητη διείσδυση μέσω της επιδερμίδας ή των άλλων φυσιολογικών φραγμών σε περιοχές του σώματος που είναι πιο ευαίσθητες σε τοξικές επιδράσεις. (Ai, 2011), (Bamrungsap, 2012). Συγκεκριμένα, τα νανοσωματίδια τείνουν να παράγουν δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και ελεύθερες ρίζες, προκαλώντας οξειδωτικό στρες, φλεγμονώδη συμβάντα, βλάβες του DNA, κλπ. (Vega-Villa, 2008). Για παράδειγμα, οι γυμνές κβαντικές κουκίδες δείχνουν κυτταροτοξικότητα με επαγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, με αποτέλεσμα την καταστροφή του πυρήνα, των μιτοχονδρίων και των μεμβρανών του πλάσματος. Επίσης, οι κβαντικές κουκίδες που περιέχουν κάδμιο (Cd^{2+}) έχει αναφερθεί ότι είναι τοξικές με την απελευθέρωση ελεύθερων ιόντων Cd^{2+} (Bamrungsap, 2012).

Εκτός αυτού, η μετακίνηση των νανοσωματιδίων στον οργανισμό είναι πολύ συχνό φαινόμενο, τόσο μέσω του κυκλοφορικού συστήματος, όσο και διαμέσου των νευρικών κυττάρων. Παρότι υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί εκκαθάρισής τους, όπως για παράδειγμα η απομάκρυνσή τους από τα μακροφάγα ή ο μεταβολισμός τους από το ήπαρ, ωστόσο, πολλές φορές δεν είναι ούτε επαρκείς ούτε αποτελεσματικοί, ενώ η γνώση σχετικά με τις ακριβείς διαδικασίες είναι ελάχιστη. Ως συνέπεια, η συσσώρευσή τους στον οργανισμό, ελλείψει περαιτέρω μηχανισμών εξάλειψης, μπορεί να προκαλέσει, βραχυπρόθεσμα ή μακροπρόθεσμα, σοβαρές ασθένειες. Το ανώτατο όριο μεγέθους για την τοξικότητα των νανοσωματιδίων δεν έχει

αποσαφηνιστεί πλήρως, καθώς η διαδικασία είναι εξαιρετικά πολύπλοκη και πολυπαραγοντική. Εξαρτάται κυρίως από τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, όπως το μέγεθος και το σχήμα, καθώς και από τις επιφανειακές συνθήκες (φορτίο, περιοχή και αντιδραστικότητα) (Onoue S. Y., 2014).

Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για να επηρεάσουν την τοξικότητα των νανοσωματιδίων και κατ'επέκταση των νανοφαρμάκων. Αυτοί οι μηχανισμοί βασίζονται στις φυσικοχημικές ιδιότητες που αυτά επιδεικνύουν, στα επιμέρους φυσικά χαρακτηριστικά τους, καθώς και στις περιβαλλοντικές συνθήκες. Μια πολύ σημαντική παράμετρος που αφορά στην τοξικότητα των νανοσωματιδίων και κατ'επέκταση των φαρμάκων που ενθυλακώνονται σε αυτά, είναι η ελάχιστη επιφάνειά τους. Πράγματι, έχει αποδειχθεί πως είναι ένας πολύ καλός προγνωστικός παράγοντας για τις τοξικές και παθολογικές αποκρίσεις των νανοσωματιδίων. Για παράδειγμα, κάποια νανοφάρμακα γίνονται λειτουργικά κατόπιν επιφανειακής σύζευξης με κατιονικά πολυμερή. Επίσης, οι κβαντικές κουκίδες με κάδμιο, που αναφέρθηκαν προηγουμένως ως τοξικές, δύνανται να περιορίσουν την τοξικότητά τους με τροποποίηση της επιφάνειάς τους, προσαρτώντας για παράδειγμα σε αυτήν N-ακετυλοκυστεΐνη (Bamrungsap, 2012).

Σε αυτό το σημείο, δόκιμο είναι να αναφερθούμε στο γεγονός ότι κάποια νανοσωματίδια είναι τοξικά κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Για παράδειγμα, το διάλυμα Au δεν θεωρείται ότι παρουσιάζει κίνδυνο νανοτοξικότητας, ενώ AuNPs έχουν ληφθεί από κύτταρα χωρίς κυτταροτοξικές επιδράσεις. Αντιθέτως, η κυτταροτοξικότητα νανορρόφησης σωματιδίων Au μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία του σταθεροποιητή βρωμιούχου κετυλοτριμεθυλαμμωνίου (Nidome, 2006). Για τα πυριτικά NPs, μόνο συγκεντρώσεις πάνω από 0,1 mg/ml βρέθηκαν να είναι τοξικές (Chang, 2007). Τα νανοσωματίδια άνθρακα (CNTs) επάγουν επίσης τη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου, συντελούν στη δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων, προκαλούν υπεροξειδωση στα λιπίδια και μεταβολές στη μορφολογία των κυττάρων (Sayes, 2006), ενώ για τον γραφίτη και το φουλλερένιο δεν έχουν αναφερθεί σημαντικές δυσμενείς επιδράσεις (Lam, 2004). Επίσης, έχουν εντοπιστεί τέτοια σκευάσματα που επηρεάζουν δυσμενώς τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τα προαποπτωτικά γονίδια στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα, ενώ η πολυκατιονική φύση μερικών τέτοιων συνθέσεων μπορεί να προκαλέσει νέκρωση και απόπτωση (Vega-Villa, 2008).

Είδαμε στην προηγούμενη ενότητα ότι μια κατηγορία νανοφαρμάκων με πολύ καλές προοπτικές είναι τα εισπνεόμενα σωματίδια. Και σε αυτήν την περίπτωση όμως, ο κίνδυνος από την χρήση τους δεν είναι αμελητέος, και αυτό γιατί η επιφανειακή δραστικότητα των

νανοσωματιδίων μπορεί να προκαλέσει χημική βλάβη στους παρακείμενους ιστούς. Τα εισπνεόμενα σωματίδια μικρού μεγέθους τείνουν, εν γένει, να εναποτίθενται στους κεντρικούς αεραγωγούς. Εντούτοις, εισπνεόμενα νανοσωματίδια μπορούν να εναποτεθούν και στην περιφέρεια του πνεύμονα, προκαλώντας εκτεταμένη φλεγμονή (Choi, 2010). Ειδικότερα, νανοσωλήνες άνθρακα σε σχήμα βελόνας, νανοσωλήνες και νανοϊνες μπορεί να προκαλέσουν ινωτική πνευμονική νόσο και σπάνιους όγκους, όπως το μεσοθηλίωμα (Wick, 2007).

Τέλος, και η αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων με το δέρμα πιθανόν να κρύβει προβλήματα. Περιορισμένου αριθμού *in vivo* μελέτες έχουν διεξαχθεί για την αντιμετώπιση του ζητήματος της δερματικής νανοτοξικότητας και έχουν επιδείξει ελάχιστο δυναμικό ερεθισμού ή αλλεργικής αντίδρασης για ορισμένα νανοσωματίδια. Σε αντίθεση με αυτά, πολλά νανοσωματίδια έχουν βρεθεί να είναι κυτταροτοξικά και προφλεγμονώδη σε περιπτώσεις *in vitro* (Ai, 2011).

Από όλα τα παραπάνω, γίνεται σαφές ότι κατά τον σχεδιασμό στοχευμένων νανοφορέων, πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψιν τα ζητήματα ασφαλείας και τοξικότητας. Η ασφαλής χορήγησή τους προϋποθέτει την καθιέρωση προτύπων και πρωτοκόλλων δοκιμών που να μπορούν να παράσχουν σημεία αναφοράς για την περαιτέρω ανάπτυξη νέων, αποτελεσματικών και ασφαλών φαρμάκων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Εισαγωγή

Η αξιόπιστη ενημέρωση σχετικά με τα αίτια θανάτου του πληθυσμού παγκοσμίως είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη εθνικών και διεθνών πολιτικών υγείας, για την πρόληψη και τον έλεγχο των ασθενειών. Οι ιατρικά πιστοποιημένες πληροφορίες είναι διαθέσιμες για λιγότερο από το 30% των εκτιμώμενων 50,5 εκατομμυρίων θανάτων που συμβαίνουν κάθε χρόνο σε όλον τον κόσμο (Murray, 1997). Ωστόσο, υπάρχουν πολλές πηγές δεδομένων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη εκτίμησης αιτιών θανάτου του πληθυσμού της Γης.

Τα αποτελέσματα από μια πρόχειρη αναζήτηση καταχωρημένων επιστημονικών δεδομένων καταδεικνύουν ότι ακόμη και σήμερα ασθένειες όπως ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες, ο διαβήτης, η νόσος του Πάρκινσον, η νόσος του Αλτσχάιμερ, η σκλήρυνση κατά πλάκας, καθώς και διάφορα είδη σοβαρών φλεγμονωδών ή μολυσματικών ασθενειών (π.χ. HIV), συνθέτουν το Πάνθεον των πλέον σοβαρών και θανατηφόρων παθήσεων της ανθρωπότητας. Παρόλα αυτά, με τη βοήθεια της έγκαιρης ανίχνευσης και πρόληψης, είναι δυνατή η βελτίωση της διάγνωσης, η σωστή θεραπεία και η παρακολούθηση της εξέλιξής τους. Κάτι τέτοιο είναι δυνατόν να επιτευχθεί με τη βοήθεια των σύγχρονων εφαρμογών της Νανοϊατρικής, ενός σχετικά νέου πεδίου επιστήμης και τεχνολογίας, το οποίο φαίνεται να κερδίζει καθημερινά έδαφος και να εδραιώνεται ανάμεσα στους πιο δυναμικούς, γνωστικά και επεμβατικά, χώρους.

Όπως είδαμε στα προηγούμενα κεφάλαια, η Νανοτεχνολογία, κάνοντας χρήση της ικανότητας αλληλεπίδρασης των βιολογικών μορίων στη νανοκλίμακα, έχει καταφέρει να διευρύνει το πεδίο της έρευνας και της εφαρμογής νέων συστημάτων για την αντιμετώπιση ασθενειών. Συγκεκριμένα, η σύμπραξη νανοσωματιδίων και βιολογικών μορίων έχει οδηγήσει στη σύνθεση φαρμάκων που χρησιμεύουν αποτελεσματικά στη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου, των καρδιαγγειακών παθήσεων, των παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος

(ΚΝΣ), καθώς και άλλων σοβαρών νοσημάτων, που αλλοιώνουν την ποιότητα ζωής των ανθρώπων και τους οδηγούν στο θάνατο.

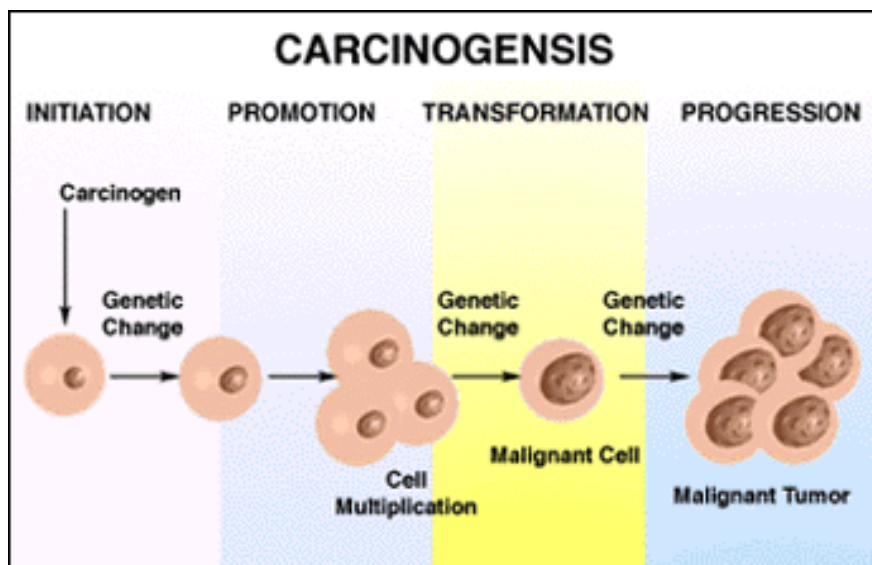
Στο παρόν κεφάλαιο επιχειρείται η ανάλυση των βασικών μηχανισμών γένεσης των προαναφερθέντων ασθενειών, προκειμένου να γίνει κατανοητή η δυσκολία αντιμετώπισης και εξάλειψής τους. Επίσης, γίνεται αναφορά στις τρέχουσες θεραπείες με την χρήση Νανοφαρμάκων, καθώς και των ελλείψεων που αυτές παρουσιάζουν, καθώς και βρίσκονται ακόμη σε πρώιμο ερευνητικό στάδιο.

ΚΑΡΚΙΝΟΣ

3.1 Καρκινογένεση

Η διαδικασία με την οποία τα φυσιολογικά, υγιή κύτταρα μεταπίπτουν σε καρκινικά ονομάζεται καρκινογένεση ή ογκογένεση. Η ανάπτυξη ενός κακοήθους όγκου, σε κάποιον υγιή ιστό, είναι το αποτέλεσμα μιας σύνθετης σειράς γεγονότων, τα οποία ξεκινούν με τη διαίρεση ενός κυττάρου που φέρει βλάβες στο γενετικό του υλικό. Τα σφάλματα στην αλληλουχία του DNA έχουν σαν αποτέλεσμα τη διακοπή των γενετικών κωδίκων που διέπουν τη δομή και τη λειτουργία του επηρεαζόμενου κυττάρου. Η επιβίωσή του και, εν συνεχεία, ο πολλαπλασιασμός του, οδηγούν στη δημιουργία δύο θυγατρικών κυττάρων με παρόμοια γενετικά σφάλματα και κακοήθεις ιδιότητες. Καθένα από τα προκύπτοντα θυγατρικά κύτταρα, ανεξάρτητα από τις βλάβες που φέρουν, είναι ικανά να διαχωριστούν και τελικά να οδηγήσουν σε δημιουργία πληθυσμού κλώνων με σοβαρές μεταλλάξεις του γενετικού υλικού (Van Gerpen, 2007; Sikora, 1999; Vulimiri S. V., 1999). Για να ανιχνευθούν και να προκαλέσουν συμπτώματα, οι διαδοχικές γενεές των θυγατρικών κυττάρων πρέπει να διαιρεθούν και να διπλασιάσουν το μέγεθος του πληθυσμού του κλώνου περίπου 30 φορές. Σε αυτό το σημείο όμως, ο όγκος πιθανότητα θα ζυγίζει ένα γραμμάριο, θα καταλαμβάνει χώρο ενός κυβικού εκατοστού και θα αποτελείται από ένα δισεκατομμύριο κύτταρα (Bryan, 1999), (Van Gerpen, 2007).

Οι περισσότερες υπάρχουσες μελέτες που σχετίζονται με την καρκινογένεση, την περιγράφουν ως μια διαδικασία πολλών σταδίων, η οποία περιλαμβάνει την έναρξη, την ανάπτυξη, την προώθηση, την μετατροπή, τη διάδοση, την εισβολή, και, τέλος, την μετάσταση, χωρίς βέβαια αυτό να σημαίνει ότι όλες ανεξαιρέτως οι καρκινογενέσεις ακολουθούν τα ίδια βήματα για την εξέλιξή τους (Van Gerpen, 2007), (Rieger, 2006), (Hanahan, 2000).



Εικόνα 3.1: Σχηματική απεικόνιση τυπικής καρκινογένεσης τεσσάρων σταδίων (έναρξη, προαγωγή, μετατροπή, εξέλιξη), στην οποία φαίνεται αναπαρίσταται η διαδικασία δημιουργίας ενός κακοήθους όγκου από ένα αρχικό ογκογονίδιο, κατόπιν διπλασιασμού και μετατροπής τους.

Πηγή: All about cancer and Nutrition, 2011

Για την έναρξη του καρκίνου έχουν ενοχοποιηθεί τα ογκογονίδια, τα οποία θεωρούνται ικανά να εκκινήσουν την ανάπτυξη κακοηθών όγκων, προκαλώντας κυτταρικές γενετικές μεταβολές. Πιο αναλυτικά, στο περιβάλλον ενός πολυκύτταρου οργανισμού η ορθή λειτουργία του βασίζεται στην εναρμονισμένη λειτουργία των κυττάρων που τον αποτελούν. Η επιβίωση του κάθε κυττάρου χωριστά, και κατ'έπекταση του συνόλου που δομούν το σύστημα, είναι ζωτικής σημασίας και προϋποθέτει την λήψη αποφάσεων που σχετίζονται με την αξιολόγηση μηνυμάτων και σημάτων που λαμβάνει, τόσο από το εξωτερικό περιβάλλον, όσο και από το εσωτερικό του ίδιου του κυττάρου. Συχνά, η απόφαση για την οποιαδήποτε λειτουργική κατάσταση είναι μια πολύπλοκη και μη αντιστρεπτή διαδικασία (Alberts, 2002). Οποιαδήποτε αλλαγή στα επίπεδα ή στο πρότυπο έκφρασης των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στη μεταγωγή σήματος, λόγω συσσώρευσης αλλαγών, δύναται να αλλοιώσει την φύση των σημάτων και να καταστήσει αναποτελεσματικούς τους μηχανισμούς ελέγχου και επιδιόρθωσης (Bringold, 2000). Η πλειοψηφία αυτών των πρωτεϊνών χαρακτηρίζονται είτε ως ογκογονίδια που επάγουν την κυτταρική αύξηση ή επιβίωση, είτε ως ογκοκατασταλτικά, δηλαδή αναστολείς του κυτταρικού κύκλου ή επαγωγείς κυτταρικού θανάτου. Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι η εμφάνιση

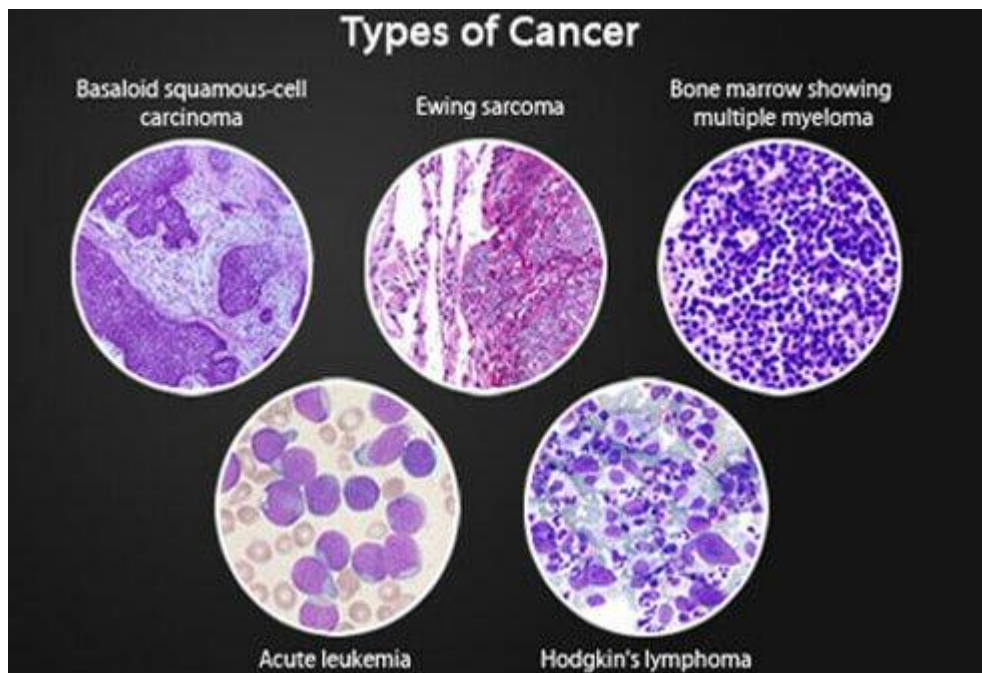
καρκινογένεσης απαιτεί την συσσώρευση μεταλλαγών, οι οποίες, εν καιρώ, θα έχουν ως αποτέλεσμα την υπερπήδηση των μηχανισμών ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και θα οδηγήσουν στον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Ωστόσο, η μετάπτωση ενός κυττάρου από φυσιολογικό σε κακόηθες θεωρείται ότι οφείλεται σε παρατεταμένης διάρκειας διαδοχικές και σωρευτικές εκθέσεις του σε καρκινογόνους και άλλους παράγοντες. Οι περισσότεροι καρκίνοι του ανθρώπου προκύπτουν από την έκθεσή του σε περιβαλλοντικούς (ή εξωγενείς) καρκινογόνους παράγοντες (π.χ. ιονίζουσες και υπεριώδεις ακτινοβολίες), καθώς και σε μία ευρεία ομάδα ενδογενών παραγόντων, για τους οποίους λίγα πράγματα είναι γνωστά (Matakidou, 2006), (Vulimiri S. V., 1999).

3.2 Τύποι καρκίνου

Ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου από το οποίο ξεκινούν, ο καρκίνος μπορεί να διακριθεί σε πέντε βασικές κατηγορίες: στα καρκινώματα, τα σαρκώματα, τις λευχαιμίες, τα λεμφώματα και μυελώματα, και τέλος, στον καρκίνο του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού (Types of Cancer, 2017).

- **Καρκίνωμα:** πρόκειται για την ανεξέλεγκτη διαίρεση των κυττάρων του δέρματος και των ιστών που καλύπτουν ή επενδύουν εσωτερικά τα όργανα. Υπάρχουν διάφοροι υποτύποι, όπως το αδеноκαρκίνωμα, το καρκίνωμα βασικών κυττάρων, το καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων και το καρκινικό μεταβατικό κύτταρο.
- **Σάρκωμα:** είναι ο καρκίνος που ξεκινά στους συνδετικούς ή υποστηρικτικούς ιστούς, δηλαδή τα οστά, οι χόνδροι, το λίπος, οι μύες και τα αιμοφόρα αγγεία.
- **Λευχαιμία:** νεοπλασία που εντοπίζεται στους ιστούς που μετέχουν στην παραγωγή του αίματος, όπως για παράδειγμα ο μυελός των οστών, και προκαλεί τη δημιουργία μη φυσιολογικών κυττάρων του αίματος.
- **Λέμφωμα και μυέλωμα:** καρκίνοι που ξεκινούν από το κύτταρο του ανοσοποιητικού συστήματος.
- **Καρκίνος του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού:** νεοπλασίες που αφορούν στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ)



Εικόνα 3.2: Εικόνες κυττάρων από διάφορους τύπους καρκίνου, βγαλμένες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στην πάνω σειρά από αριστερά προς τα δεξιά βλέπουμε κύτταρα από: βασικό καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων, σάρκωμα του Ewing, πολλαπλό μυέλωμα μυελού των οστών. Στην κάτω σειρά από αριστερά προς τα δεξιά βλέπουμε κύτταρα από: οξεία λευχαιμία, λέμφωμα Hodkins.

Πηγή: Understanding Cancer, 2016

Μια άλλη ταξινόμηση που μπορεί να γίνει είναι αυτή με βάση το όργανο που προσβάλλει ή την περιοχή που εμφανίζεται. Οι γνωστότεροι και συχνότεροι είναι: ο καρκίνος του πνεύμονα, του μαστού, του τραχήλου της μήτρας, του προστάτη, του ήπατος, του παχέος εντέρου, του στομάχου, των λεμφαδένων, του δέρματος (μελάνωμα), των νεφρών, των οστών, των όρχεων, του λάρυγγα, το λέμφωμα Hodgkin και το λέμφωμα Non Hodgkin.

3.3 Μέθοδοι διάγνωσης του καρκίνου

Η έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση του καρκίνου, μετά από την πρόληψη, είναι ίσως ο πιο αποτελεσματικός τρόπος αντιμετώπισής του, και αυτό γιατί ο χρόνος είναι πολύ σημαντική παράμετρος στην εξέλιξή τους. Πράγματι, έρευνες έχουν αποδείξει ότι η πιθανότητα ίασης σχετίζεται με τα πρώιμα στάδια της νόσου, η οποία όμως μειώνεται εκθετικά όσο καθυστερεί η αναγνώριση και αξιολόγηση των συμπτωμάτων. Η διαγνωστική ακρίβεια είναι εξίσου απαραίτητη για την επιλογή της ορθής θεραπευτικής αγωγής, ενώ τα διαθέσιμα διαγνωστικά εργαλεία είναι σήμερα πολλά, ακριβή και ασφαλή. Η διαδικασία αξιολόγησης ενός ατόμου με

συμπτώματα που υποδηλώνουν καρκίνο ξεκινά με την εκτίμηση των ίδιων των συμπτωμάτων, το ατομικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό, την συνεκτίμηση των παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου (κάπνισμα, παχυσαρκία, κλπ.) και την λεπτομερή φυσική εξέτασή του.

Από την αξιολόγηση των στοιχείων του ατομικού και οικογενειακού ιστορικού, καθώς και από την φυσική εξέταση μπορεί να προκύψουν κάποια συμπεράσματα για μια αρχική εκτίμηση. Ωστόσο, ο ασφαλέστερος τρόπος διάγνωσης είναι η διεξαγωγή εργαστηριακών εξετάσεων, οι οποίες μπορούν να επιβεβαιώσουν ή να διαψεύσουν την αρχική διάγνωση. Οι εργαστηριακές εξετάσεις μπορεί να περιλαμβάνουν ανάλυση καρκινικών δεικτών, οι οποίοι αυξάνονται ραγδαία στην περίπτωση κάποιων τύπων καρκίνου και είναι χρήσιμοι για την αξιολόγηση της προόδου της νόσου. Το επόμενο στάδιο της διαγνωστικής διαδικασίας περιλαμβάνει, εν γένει, τη χρήση τεχνικών διαγνωστικής απεικόνισης για τον εντοπισμό του πρωτοπαθούς όγκου και, αν ενδείκνυται, προσδιορίζει την έκταση οποιασδήποτε μεταστατικής κατάστασης. Μετά τον εντοπισμό των θέσεων πρωτοπαθούς ή/και δευτερογενούς όγκου, το τελικό βήμα στην οριστικοποίηση της διάγνωσης είναι η συλλογή δείγματος ιστού από τον όγκο για παθολογοανατομική ανάλυση. Η βιοψία ιστών για παθολογική ανάλυση είναι απαραίτητη για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών του όγκου, τα οποία, εν συνεχεία, θα καθοδηγήσουν τους ειδικούς στη λήψη αποφάσεων σχετικά με τους τρόπους βέλτιστης δυνατής αντιμετώπισης (Johnson, 2007; Omerod, 2007; Geraghty, 1999).

3.4 Θεραπευτικές μέθοδοι για την αντιμετώπιση του καρκίνου

Οι θεραπευτικές οδοί για την ίαση του καρκίνου είναι πολλές και, εν γένει, χρονοβόρες και πολύπλοκες. Κάποιες από αυτές αποδίδουν το επιθυμητό αποτέλεσμα και άλλες όχι, καθώς η έκβαση της ασθένειας δεν εξαρτάται από μία μόνο παράμετρο αλλά είναι πολυπαραγοντική. Όπως ήδη αναφέρθηκε νωρίτερα, σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου διαδραματίζει η έγκαιρη και σωστή διάγνωση. Ωστόσο, και η σωστή επιλογή θεραπείας είναι μείζονος σημασίας. Οι εφαρμοστέες μέχρι σήμερα μέθοδοι αντιμετώπισης είναι, ιεραρχικά, οι ακόλουθες: χειρουργική εκτομή όγκου, ακτινοθεραπεία, ανοσοθεραπεία και χημειοθεραπεία.

3.4.1 Χειρουργική εκτομή όγκου

Πρόκειται για την πιο συχνή μέθοδο αντιμετώπισης των καρκινικών όγκων και αυτό γιατί η πρόοδος της τεχνολογίας στον τομέα της απεικόνισης, από τις αρχές της δεκαετίας του 1970, διευκόλυνε κατά πολύ την χειρουργική διαδικασία. Ο υπερηχογράφος (Ultra Sound Scan,

υπερηχογραφία), η αξονική τομογραφία (CT Scan), η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI, μαγνητική τομογραφία) και τη τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET σαρώσεις) είναι σε θέση να δώσουν τις ακριβείς συντεταγμένες των παθολογικών ιστών, ώστε στη συνέχεια να πραγματοποιηθεί η εκτομή τους. Χρησιμοποιώντας μικροσκοπικές βιντεοκάμερες ενδοσκοπικά, οι χειρουργοί μπορούν να απομακρύνουν τους διάφορους όγκους, όπως εκείνους του παχέος εντέρου, του οισοφάγου και της ουροδόχου κύστεως. Εφαρμογή στην χειρουργική αντιμετώπιση έχουν επίσης και διαδικασίες λιγότερο επεμβατικές, κατά τις οποίες δεν απαιτείται εκτομή του όγκου, όπως είναι για παράδειγμα ο ψεκασμός με υγρό άζωτο για την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων (κρυοχειρουργική). Η μέθοδος λέιζερ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να αφαιρεθεί όγκος από τον ιστό του τραχήλου της μήτρας, του λάρυγγα, του ήπατος, του ορθού, του δέρματος, καθώς και άλλων οργάνων (Sudhakar, 2009).

3.4.2 Ακτινοθεραπεία

Η μέθοδος αντιμετώπισης τους καρκίνου με ακτινοβολία είναι από τις πιο παλιές και πιο συχνά χρησιμοποιούμενες ιατρικές προσεγγίσεις. Πράγματι, λίγα χρόνια μετά την ανακάλυψη των «ακτίνων X», το 1896, από τον Roentgen, αυτό το είδος ionτίζουσας ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε τόσο στη διάγνωση, όσο και στην θεραπεία του καρκίνου. Στις αρχές του 20ου αιώνα, οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι η ακτινοβολία έχει διττή ιδιότητα, από την μια μπορούσε να θεραπεύσει τον καρκίνο και από την άλλη ήταν ικανή να πυροδοτήσει την γένεσή του. Σήμερα εφαρμόζονται αρκετές θεραπείες με την μέθοδο της ακτινοβόλησης όγκων, μερικές από τις οποίες είναι οι ακόλουθες: (α) η συμβατική θεραπεία δέσμης πρωτονίων (δέσμη πρωτονίων χρησιμοποιείται για τη θανάτωση κυττάρων όγκου αντί για ακτίνες X), β) η στερεοτακτική χειρουργική επέμβαση και η στερεοτακτική θεραπεία (το μαχαίρι ακτίνων γάμμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία του κοινού όγκου στον εγκέφαλο), (γ) ενδο-επεμβατική ακτινοθεραπεία (ο καρκίνος έχει αφαιρεθεί χειρουργικά, ακολουθούμενος από ακτινοβολία στους παρακείμενους ιστούς) (Sudhakar, 2009). Ο στόχος όλων των προηγούμενων μεθόδων είναι η καταστροφή των παθολογικών κυττάρων στο πεδίο ακτινοβόλησης και η παρεμπόδιση της περαιτέρω κυτταρικής διαίρεσης και ανάπτυξης του όγκου.

3.4.3 Ανοσοθεραπεία

Ανοσοθεραπεία είναι η χρήση βιολογικών παραγόντων, κυρίως πρωτεϊνών υψηλής καθαρότητας, οι οποίοι μιμούνται τα εσωτερικά σήματα που χρησιμοποιεί ο οργανισμός, προκειμένου να ενεργοποιήσει το ανοσοποιητικό σύστημα, όταν αυτό κρίνεται αναγκαίο (π.χ. κατά την εισβολή ιών και βακτηρίων). Με λίγα λόγια, η ανοσοθεραπεία χρησιμοποιεί τους ίδιους τους μηχανισμούς άμυνας του σώματος, με σκοπό να προκαλέσει την ενεργοποίηση του θύμου αδένος και, εν συνεχεία, την παραγωγή Τ κυττάρων, τα οποία θα λειτουργήσουν ως «εξολοθρευτές» των αντίστοιχων καρκινικών.

Οι βιολογικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στην ανοσοθεραπεία, συμπεριλαμβανομένων των ιντερφερονών, της ιντερλευκίνης, των κυτοκινών, των ενδογενών αγγειο-αναστολέων και των αντιγόνων, μπορούν να παραχθούν στο εργαστήριο. Κατά τη δεκαετία του 1990 οι επιστήμονες παρήγαγαν τα θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα, *rituximab* (ριτουξιμάμπη) και *trastuzumab* (τραστουζουμάμπη), τα οποία στοχεύουν συγκεκριμένα στα κύτταρα της λέμφου και του μαστού. Σήμερα οι επιστήμονες αναπτύσσουν εμβόλια για την ενίσχυση της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού έναντι των καρκινικών κυττάρων.

3.4.4 Χημειοθεραπεία

Ως χημειοθεραπεία ορίζεται η συστηματική χορήγηση φαρμάκου ή συνδυασμού φαρμάκων στον πάσχοντα, με σκοπό την εξόντωση, επιβράδυνση και περαιτέρω ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Στις περιπτώσεις που η χημειοθεραπεία αφορά στην χορήγηση περισσότερων του ενός φαρμάκων-συνήθως μιας ομάδας θεραπευτικών ουσιών, οι οποίες συνενεργούν-τότε μιλάμε για χημειοθεραπεία συνδυασμού. Το είδος της χημειοθεραπείας που θα χορηγηθεί εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα η μορφή του καρκίνου, το σημείο εκκίνησής του, η εικόνα που παρουσιάζουν τα καρκινικά κύτταρα στο μικροσκόπιο, η διήθηση ή μετάστασή τους, κλπ. (How Is Chemotherapy Used to Treat Cancer?, 2016).

Η πλειοψηφία των ασθενών με καρκίνο υποβάλλεται σήμερα σε χημειοθεραπεία, τόσο σε αρχικό, όσο και σε προχωρημένο στάδιο της νόσου, με σκοπό είτε την ίαση ή την ανακούφιση. Σύμφωνα με τα επισήμως καταχωρημένα στατιστικά στοιχεία, οι πιο τελεσφόρες χημειοθεραπείες είναι οι συνδυαστικές, εκείνες δηλαδή που κάνουν χρήση «κοκτέιλ» φαρμάκων για την καταπολέμηση της ασθένειας. Σήμερα υπάρχουν τουλάχιστον 100 είδη διαφορετικών

χημειοθεραπευτικών παραγόντων στη διάθεση των θεραπόντων ιατρών (How Chemotherapy Drugs Work, 2016), τα οποία μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής (Juckett, n.d.):

- **Αλκυλιούντες παράγοντες (Alkylating Agents):** προκαλούν βλάβες στο γενετικό υλικό των καρκινικών κυττάρων. (π.χ. κυκλοφωσφαμίδη, μεχλωραιθαμίνη, σισπλατίνη, κλπ.)
- **Αντικαρκινικά αντιβιοτικά (Antibiotics):** στοχεύουν ένζυμα που συμμετέχουν στην αναπαραγωγή των καρκινικών κυττάρων (π.χ. αδριαμυκίνη, μιτομυσίνη-C, κλπ.)
- **Αντιμεταβολίτες & Αναστολείς (Antimetabolites & Inhibitors):** στοχεύουν στην καταστροφή τόσο του DNA όσο και του RNA των καρκινικών κυττάρων (π.χ. μεθοτρεξάτη, 5-φλουορο-ουρακίλη, τοποτεκάνη κλπ.)
- **Ορμόνες (Hormones):** φυσικές ορμόνες για θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου (π.χ. δεξαμεθαζόνη, ταμοξιφένη, κλπ.)

NAMES AND PROPERTIES OF ROUTINELY PRESCRIBED CHEMOTHERAPY AGENTS			
Common Name	Primary Target	Mechanism	Similar Drugs
Alkylating Agents			
cyclophosphamide	DNA	nitrogen mustard (<i>reactive</i>)	ifosfamide melphalan
cisplatin	DNA	platinum coordination (<i>reactive</i>)	carboplatin
Antibiotics			
doxorubicin (adriamycin)	DNA	polycyclic rings allow intercalation (<i>interactive</i>), quinones allow redox reactions (<i>reactive</i>)	bleomycin mitomycin-C daunorubicin
Antimetabolites & Inhibitors			
methotrexate	dihydrofolate reductase	mimics folate (<i>interactive</i>)	trimetrexate
5-fluorouracil	thymidylate synthase, also incorporated into RNA and DNA	mimics deoxyuridine triphosphate (<i>reactive</i> and <i>interactive</i>)	5-azacytidine cytarabine 6-mercaptopurine

vincristine	microtubules	inhibits tubule assembly (<i>reactive</i>)	vinblastine
paclitaxel (taxol)	microtubules	inhibits tubule depolymerization (<i>reactive</i>)	docetaxel
etoposide	topoisomerase II	inhibits reconnection of DNA (<i>interactive</i>)	teniposide
topotecan	topoisomerase I	inhibits reconnection of DNA (<i>interactive</i>)	irinotecan
Hormones			
dexamethasone	glucocorticoid receptor	modify DNA transcription (<i>interactive</i>)	hydrocortisone prednisone cortisone
diethylstilbestrol	estrogen receptors	change hormonal balance (<i>interactive</i>)	estradiol modified estrogens
tamoxifen	estrogen receptors	blocks receptors in receptor-positive breast cancer (<i>interactive</i>)	torimenifene

Πίνακας 2: Ονόματα και ιδιότητες των πλέον συνηθισμένων χημειοθεραπευτικών παραγόντων.

Πηγή: Chemistry Explained Foundation and Application

Ορισμένοι καρκίνοι μπορούν να θεραπευτούν με χημειοθεραπεία μόνο, ή σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες, όπως χειρουργική εκτομή και ακτινοθεραπεία. Η χημειοθεραπεία μπορεί να χορηγηθεί είτε πριν ή μετά τις άλλες θεραπείες. Όταν χορηγείται πριν, τα φάρμακα χρησιμοποιούνται για να συρρικνώσουν τον καρκίνο, έτσι ώστε η επόμενη θεραπευτική αγωγή να είναι πιο αποτελεσματική. Αυτή ονομάζεται προεγχειρητική χημειοθεραπεία και χρησιμοποιείται για καρκίνους στο κεφάλι, στο λάρυγγα και στο στήθος. Σε περιπτώσεις που ο καρκίνος δεν μπορεί να θεραπευτεί, η χημειοθεραπεία μπορεί να μειώσει τα συμπτώματα και να βελτιώσει την ποιότητα ζωής. Σε αυτήν την περίπτωση, η χημειοθεραπεία ονομάζεται παρηγορητική και στοχεύει στην ανακούφιση των συμπτωμάτων. Είναι δε ιδιαίτερα σημαντική για τους ασθενείς προχωρημένου σταδίου, για τους οποίους η ίαση είναι αμφίβολη, αλλά επιθυμούν να διατηρήσουν την ποιότητα της ζωής τους.

Ωστόσο, τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα δεν είναι αθώα. Τουναντίον, έχουν χαρακτηριστεί ως κυτταροτοξικά, γεγονός που σημαίνει ότι μπορούν να επηρεάσουν, εκτός από

τα πάσχοντα κύτταρα, και τα υγιή. Τα υγιή κύτταρα που είναι πιθανότερο να επηρεαστούν είναι αυτά που διαιρούνται γρήγορα, όπως για παράδειγμα αυτά που βρίσκονται στο μυελό των οστών, στο βλεννογόνο της γαστρεντερικής οδού, στο αναπαραγωγικό σύστημα και στους θύλακες των τριχών (απόπτωση τριχών κεφαλής). Αφού ολοκληρωθεί η θεραπεία, αυτά τα κύτταρα συνήθως αναρρώνουν. Επίσης, οι παρενέργειες των χημειοθεραπειών δεν είναι πάντα προβλέψιμες, εφόσον μπορούν να προκαλέσουν διαφορετικές αντιδράσεις μεταξύ των ασθενών. Κάποιοι δεν παρουσιάζουν παρενέργειες, ενώ άλλοι έχουν από ήπιες έως έντονες ενοχλήσεις. Μεταξύ των πιο συχνών είναι η αλωπεκία, η ναυτία, ο εμετός, η διάρροια, η ξηροστομία, η βλεννογονίτιδα, η καχεξία, η ξηροστομία, η δυσκολία στην κατάποση, η αναιμία, οι διάφορες λοιμώξεις, η αιμορραγία, κ.α. Ακόμη, οι αντιδράσεις αυτές δεν είναι πάντα ίδιες αλλά μπορεί να διαφέρουν από τη μια περίοδο χημειοθεραπείας ως την επόμενη. Πιο σπάνια προβλήματα περιλαμβάνουν βλάβη στην καρδιά, στο ήπαρ, στους πνεύμονες, στα νεφρά ή στα νεύρα. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι παρενέργειες εξαφανίζονται, μόλις ολοκληρωθεί η θεραπεία. Οι ερευνητές εργάζονται προκειμένου να μειώσουν ή και να απαλείψουν εντελώς αυτές τις παρενέργειες και να ανακουφίσουν τους ασθενείς από τα δυσάρεστα συμπτώματά τους (Chemotherapy Side Effects, 2016).

3.5 Νανοφάρμακα για τη θεραπεία του καρκίνου

Οι επιπτώσεις στον οργανισμό από τις εφαρμοστέες μεθόδους αντιμετώπισης της πολυπαραγοντικής ασθένειας του καρκίνου δεν είναι καθόλου ευκαταφρόνητες. Αντίθετα, είναι πολύ συχνό φαινόμενο οι ασθενείς να ανησυχούν περισσότερο για τις παρενέργειες, παρά για την ίδια την ασθένεια. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την αναποτελεσματικότητα των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, εξαιτίας των γενικών και ειδικών προβλημάτων που παρουσιάζουν, ενισχύει την ανησυχία και μετριάξει τον ενθουσιασμό τόσο των θεραπόντων, όσο και των ασθενών, για την πορεία και την έκβαση της νόσου. Δισεπίλυτα προβλήματα όπως η μη ειδική βιοκατανομή και στόχευση, η έλλειψη υδατοδιαλυτότητας, η κακή βιοδιαθεσιμότητα από το στόμα και οι χαμηλοί θεραπευτικοί δείκτες, είναι, όπως έχουμε ήδη αναφέρει, μερικά από τα προβλήματα που παρουσιάζουν οι συμβατικές χημειοθεραπείες. Η σύγκλιση της νανοτεχνολογίας και της έρευνας για την βελτίωση των αντικαρκινικών φαρμάκων θα μπορούσε να προσφέρει λύσεις σε πολλά από τα εγγενή προβλήματα που συνδέονται με τα συμβατικά αντικαρκινικά φάρμακα. Τα νανοσωματίδια, που τυπικά έχουν διάμετρο η οποία κυμαίνεται

στην περιοχή των 100nm, προσφέρουν τη δυνατότητα μετατροπής των αδιάλυτων ή των ελαφρώς διαλυτών φαρμάκων σε εναιωρήματα, εξαλείφοντας έτσι την ανάγκη για χρήση τοξικών οργανικών διαλυτών. Επίσης, όπως αναλύθηκε σε προηγούμενη ενότητα, η ενσωμάτωση νανοσωματιδίων στα αντικαρκινικά φάρμακα, όχι μόνο μπορεί να μειώσει τις ανεπιθύμητες κυτταροτοξικές τους επιδράσεις αλλά, σε πολλές περιπτώσεις, είναι δυνατόν να αυξήσει τη συσσώρευση του φαρμάκου στο αγγειακό σύστημα του όγκου.

Για όλους αυτούς τους λόγους, οι τρέχουσες μέθοδοι θεραπείας έχουν εντάξει δυναμικά τα νανοφάρμακα στις χημειοθεραπευτικές τους μεθόδους, με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, το Doxil® και το Abraxane® είναι δύο αντικαρκινικά φαρμακευτικά σκευάσματα, εγκεκριμένα από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), βασισμένα στη νανοτεχνολογία. Βρίσκουν εφαρμογή, το πρώτο, στην θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών και το δεύτερο, στον μεταστατικό καρκίνο του μαστού και του παγκρέατος. Το Doxil® είναι ένα λιποσωμικό σκεύασμα παρατεταμένης απελευθέρωσης της ουσίας δοξορουβικίνης, το οποίο παρουσιάζει αξιόλογη αποτελεσματικότητα, σε σύγκριση με την ελεύθερη δοξορουβικίνη (Martin, 1998; Park J. W., 2002; Nishiyama, 2006). Το Abraxane® (Abraxis) αντίστοιχα, είναι ένα θεραπευτικό σύστημα με σημαντικές αντινεοπλασματικές ιδιότητες, που τα τελευταία χρόνια χορηγείται συστηματικά για την θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος, της 4^{ης} κατά σειρά κοινής αιτίας θανάτου, σχετιζόμενης με τον καρκίνο, στον δυτικό κόσμο, η οποία μάλιστα προβλέπεται ότι θα καταστεί η 2η βασική αιτία μέχρι το 2030 (Lee, 2016). Παρά τις σημαντικές εξελίξεις στη θεραπεία άλλων τύπων καρκίνου, το 5ετές ποσοστό επιβίωσης για τον παγκρεατικό καρκίνο (περίπου 5%) παραμένει το ίδιο. Το παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα αποτελεί περίπου το 90% των καρκίνων του παγκρέατος (Ryan, 2014) και είναι ο πιο απαιτητικός τύπος για θεραπεία (Hidalgo, 2015) εξαιτίας του γεγονότος ότι, συνήθως, διαγιγνώσκεται σε μεταγενέστερο στάδιο και είναι ανθεκτικό στις χημειοθεραπείες και τις ακτινοβολίες (Garrido-laguna, 2015). Οι μηχανισμοί ανάπτυξης και εξέλιξης των παγκρεατικών καρκίνων δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί πλήρως, παρεμποδίζοντας έτσι την πρόοδο των προγραμμάτων θεραπείας για τη διαχείριση της νόσου, ενώ στην πλειονότητά τους είναι κυρίως παρηγορητικές (Vaccaro, 2015).

Η δραστική ουσία του Abraxane είναι η πακλιταξέλη. Η τελευταία, προκειμένου να ενεργήσει, πρέπει να κάνει χρήση του διαλύτη Cremophor EL, μιας παραδοσιακής ουσίας που ενοχοποιείται για κυτταροτοξικότητα και αντιδράσεις υπερευαισθησίας. Για να μετριάσουν οι

παρενέργειες, το φάρμακο ανασκευάστηκε, συνδέοντας τη δραστική ουσία με ανθρώπινη λευκωματίνη ορού, υπό μορφή νανοσωματιδίων, με πολύ βελτιωμένα αποτελέσματα (Gradishar, 2005; Moreno, 2008; (Sparreboom, 2005). Επίσης, το Abraxane κατέδειξε εξαιρετική αντικαρκινική δράση σε προκλινικές μελέτες τόσο ως μεμονωμένο παράγωγο, όσο και ως συνεργατικός φορέας της ουσίας γεμισιταβίνης, σε πρότυπα μυών με καρκίνο παγκρέατος (Frese, 2012; Arachchige, 2017). Η συνδυασμένη θεραπεία έδειξε αξιοσημείωτη βελτίωση όσον αφορά στην επιβίωση ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος σε όλα τα χρονικά σημεία (Von Hoff D. E., 2013). Μια λίστα με παρόμοιες συνθέσεις που βασίζονται σε νανοσωματίδια και βρίσκονται επί του παρόντος στο στάδιο των κλινικών δοκιμών, παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.

Νανοφάρμακα σε διαδικασία ανασκευής ή ήδη διαθέσιμα στο εμπόριο

Προϊόν	Εταιρεία	Δραστική ουσία	Ανασκευή	Οδός χορήγησης	Εφαρμογή	Κατάσταση
Abraxane	Abraxis Bioscience, AstraZeneca	Paclitaxel	Νανοσωματίδια Λευκωματίνης	Ενδοφλέβια	Μεταστατικός καρκίνος μαστού, καρκίνος παγκρέατος	Σε κυκλοφορία
DaunoXome	NeXstar Pharmaceutica	Daunorubicin citrate	Λιπόσωμα	Ενδοφλέβια	Σάρκωμα Καπόσι σε ασθενείς με AIDS	Σε κυκλοφορία
Emend®	Merck/Elan	Aprepitant, MK869	Νανοκρύσταλλοι	Από του στόματος	Χημειοθεραπεία συνοδευόμενη από ναυτία και εμετό	Σε κυκλοφορία
Caelyx®	Shering-Plough	Doxorubicin	Πεγκυλιωμένο λιπόσωμα	Ενδομυϊκά	Μεταστατικό καρκίνο μαστού και ωοθηκών, Σάρκωμα Καπόσι	Σε κυκλοφορία
Myocet®	Zeneus Pharma Ltd	Doxorubicin	Λιπόσωμα	Από του στόματος	Μεταστατικό καρκίνο του μαστού	Σε κυκλοφορία
Doxil	Sequus Parmaceutical	Doxorubicin	Λιπόσωμα	Από του στόματος	Σάρκωμα Καπόσι	Σε κυκλοφορία
L-Annamycin	Callisto Pharmaceuticals	Annamycin	Λιπόσωμα	Από του στόματος	Παιδιά και νεαρούς ενήλικες με εμμένουσα ή υποτροπιάζουσα οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία ή οξεία μυελογενή λευχαιμία	Φάση I/II
SLIT Amikacin	Transave, Inc.	Cisplatin	Λιπόσωμα	Εισπνεόμενο	Καρκίνος του πνεύμονα, πνευμονικές μεταστάσεις	Φάση II
N/A	North Central Cancer	Paclitaxel, carboplatin,	Νανοσωματίδια αλβουμίνης	Από του στόματος	Στάδιο IV εμμένοντος μετά	Φάση II

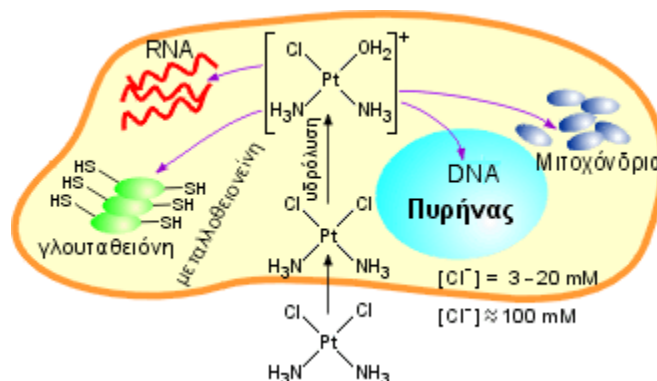
	Treatment Group	temozolomide, becacizumab				από χειρουργική αφαίρεσης κακοήθους μελενώματος	
Genexol-PM	Samyang Pharmaceuticals	Paclitaxel	Μεθόξυ PLA	PEG-	Από του στόματος	Καρκίνος του μαστού και των πνευμόνων	Φάση II
CALAA-01	Calando Pharmaceuticals	Anti-R2 siRNA	Κυκλοδεξτρίνη- που περιέχει πολυμερικά νανοσωματίδια (CAL101) και παράγοντα στόχευσης (AD-PEG-Tf)		Από του στόματος	Συμπαγείς όγκοι, ανθεκτικοί σε συντηρητική θεραπεία	Φάση I
Rexin-G	Epeius Biotechnologies	Dominant negative cyclin G1 construct	Παθοτροπικά νανοσωματίδια		Από του στόματος	Επανεμφανιζόμενος ή μεταστατικός καρκίνος του μαστού	Φάση I/II
BikDD Nanoparticle	M.D. Anderson Cancer Center/NCI	Pro-apoptic Bik gene (BikDD)	Λιπόσωμα		Από του στόματος	Παγκρεατικός καρκίνος	Φάση I
Docetaxel-PNP	Samyang	Docetaxel	Πολυμερικά νανοσωματίδια		Από του στόματος	Προχωρημένοι κακοήθεις συμπαγείς όγκοι	Φάση I
NL CPT-11	University of California, San Francisco	CPT-11	Λιπόσωμα		Από του στόματος	Επανεμφανιζόμενο γλοιώμα προχωρημένου σταδίου	Φάση I

Πίνακας 3: Τα δεδομένα του πίνακα έχουν τροποποιηθεί από: Zhang et al., 2008

3.5.1 Σισπλατίνη

Ακόμη μια ουσία γνωστή για τις αντικαρκινικές της ιδιότητες και με ευρεία, τρέχουσα κλινική εφαρμογή είναι η σισπλατίνη (cisplatinum ή cis-diamminedichloroplatinum (II)). Πρόκειται για ένα χημειοθεραπευτικό φάρμακο με βάση τον Λευκόχρυσο, που εγκρίθηκε από τον FDA για κλινική χρήση το 1978. Έκτοτε, υπήρξε το πιο συχνά χορηγούμενο αντικαρκινικό φάρμακο στην κλινική πρακτική, παρά την εμφάνιση αρκετών νεότερων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, τις τελευταίες δεκαετίες. Χρησιμοποιείται για την θεραπεία πολλών ειδών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων των σαρκωμάτων, κάποιων ειδών καρκινωμάτων (π.χ. μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα και καρκίνο ωοθηκών), των λεμφωμάτων και των όγκων των γεννητικών οργάνων. Η σισπλατίνη ανήκει στους αλκυλιούντες παράγοντες και προκαλεί βλάβη στη λειτουργία των κυττάρων, αφού δημιουργεί ρωγμές στο DNA καθώς και διασταυρούμενη σύνδεση (cross linking) μεταξύ των αλυσίδων των νουκλεϊνικών οξέων. Το αποτέλεσμα είναι να

γίνονται λάθη κατά την μίτωση (μεταγραφή και μετάφραση του γενετικού υλικού) και ως εκ τούτου παραγωγή παθολογικών πρωτεϊνών, που παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό, τη διαίρεση και την επιβίωση του καρκινικού κυττάρου. Η προκαλούμενη από σισπλατίνη βλάβη του DNA έχει ως επακόλουθο την ενεργοποίηση μηχανισμών επιδιόρθωσής του, οι οποίοι όμως αποτυγχάνουν, οδηγώντας το κύτταρο σε απόπτωση.



Εικόνα 3.3: Σχηματική αναπαράσταση αντικαρκινικής δράσης σισπλατίνης.

Πηγή: Cisplatin: The Invention of an Anticancer Drug

Παρόλα αυτά, η κλινική χρήση της σισπλατίνης σε όγκους περιορίζεται από επιβλαβείς παρενέργειες, όπως για παράδειγμα της μυελοκαταστολής, της νεφροτοξικότητας, της ωτοτοξικότητας και της περιφερικής νευροπάθειας. Επιπλέον, μειονέκτημα αποτελεί και το γεγονός ότι αδρανοποιείται ταχέως, δεσμευόμενη από τις πρωτεΐνες του πλάσματος και των ιστών (Cvitkovic, 1998), ενώ η εφαρμογή του φαρμάκου περιορίζεται ακόμη περισσότερο εξαιτίας της εγγενούς και επίκτητης αντοχής της σισπλατίνης. Συγκεκριμένα, η βιοκατανομή της στο πλάσμα και τους ιστούς, δηλαδή η μεταφορά του φαρμάκου από τη γενική κυκλοφορία στον υπόλοιπο οργανισμό, είναι μια διαδικασία ταχύτατη που ξεκινά με την ενδοφλέβια χορήγηση και ολοκληρώνεται με την άμεση απέκκρισή της από τους νεφρούς, στους οποίους και εμφανίζεται υψηλή τοξικότητα. Αντίθετα, η συγκέντρωση της σισπλατίνης στο ήπαρ, τον σπλήνα και τους όγκους είναι πολύ μικρότερη (Voulgari E1, 2016). Προκειμένου να περιοριστούν οι ανεπιθύμητες παρενέργειες από την χρήση της και να ενισχυθεί η αντικαρκινική της δράση, ήταν επιτακτική ανάγκη να βρεθούν τρόποι που να αυξάνουν την βιοκατανομή, μειώνοντας παράλληλα τη νεφροτοξικότητα.

Περί τα μέσα της δεκαετίας του '90, ερευνητές ανέφεραν την σύνθεση νανοσωματιδίων αλκυλοκυανοακρυλικού, τα οποία είχαν τη δυνατότητα να ενθυλακώνουν σισπλατίνη. Οι ερευνητές εξέτασαν την αποτελεσματικότητα παγίδευσης των νανοσωματιδίων,

χρησιμοποιώντας διαφορετικές επιφανειοδραστικές ουσίες και δεξτράνες διαφορετικού μεγέθους (Bharali, 2010). Η ενθυλάκωση της σισπλατίνης αποδείχθηκε επιτυχής, εφόσον με τον τρόπο αυτό μειώθηκαν οι παρενέργειες από την χρήση της και αυξήθηκε η θεραπευτική της δραστηριότητα. Έπειτα από την πρώτη απόπειρα, αναπτύχθηκαν διάφορα συστήματα νανοφορέων στα οποία ενκαψακιάζεται η σισπλατίνη και επιτρέπουν την στοχευμένη-παρατεταμένη αποδέσμευση των φαρμάκων στους όγκους, ενώ παράλληλα μειώνουν τις παρενέργειες και την πιθανότητα ανάπτυξης ανοχής στο φάρμακο (Oberoi, 2013).

3.5.2 Δοξορουβικίνη

Στις τρέχουσες χημειοθεραπευτικές αγωγές συμπεριλαμβάνεται και η χρήση της δοξορουβικίνης. Πρόκειται για μία ευρέως χορηγούμενη θεραπευτική ουσία, που ανήκει στα αντινεοπλασματικά αντιβιοτικά και η οποία βρίσκει εφαρμογή στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού, των ωοθηκών και της ουροδόχου κύστης. Η ιδιότητά της ως αντινεοπλασματικός παράγοντας έγκειται στο γεγονός ότι μπορεί να συνδεθεί με το DNA και να απενεργοποιήσει τη δραστηριότητα της τοποϊσομεράσης II, ενός σημαντικού ενζύμου που εκτυλίζει την έλικα του DNA προκειμένου να ξεκινήσει η αντιγραφή του (Heisig, 2009). Η σύνδεση της δοξορουβικίνης παρεμποδίζει τη διπλή έλικα του DNA από την επανασύνδεσή της, γεγονός που καθιστά αδύνατη την αντιγραφή. Η λειτουργία της λοιπόν, ως αναστολέας της αντιγραφής, την καθιστά ένα πολύ αποτελεσματικό αντικαρκινικό φάρμακο, που όμως δεν είναι ελεύθερο από σχετικά σοβαρές παρενέργειες. Ανάμεσα σε αυτές, συμπεριλαμβάνεται η μη αναστρέψιμη τοξικότητα του μυοκαρδίου και η θανατηφόρος συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, που περιορίζουν κατά πολύ τη χρήση της (Von Hoff, 1982). Αντίθετα, οι παρενέργειες από την απελευθέρωσή της βελτιώθηκαν μέσω της χρήσης νανοσωματιδιακών φορέων, όπως για παράδειγμα νανοσωματίδιων χιτοζάνης, που κατάφεραν να διατηρήσουν την κυτταροστατική της δράση, σε σχέση με την ελεύθερη δοξορουβικίνη (Janes, 2001).

Ενισχυμένα αντικαρκινικά αποτελέσματα εμφανίστηκαν επίσης όταν νανοσωματίδια χιτοζάνης συζεύχτηκαν με δεξτράνη-δοξορουβικίνη (DEX-DXR) έναντι όγκου μακροφάγου J774A.1, σε ποντίκια Balb/c. Ενισχυμένη παλινδρόμηση του όγκου και αυξημένος χρόνος επιβίωσης παρατηρήθηκαν στα ζώα που υποβλήθηκαν σε αγωγή με νανοσωματίδια χιτοζάνης DEX-DXR, και όχι σε εκείνα που είχαν λάβει DEX-DXR ή ελεύθερη δοξορουβικίνη. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η ενθυλάκωση της δοξορουβικίνης στα νανοσωματίδια όχι

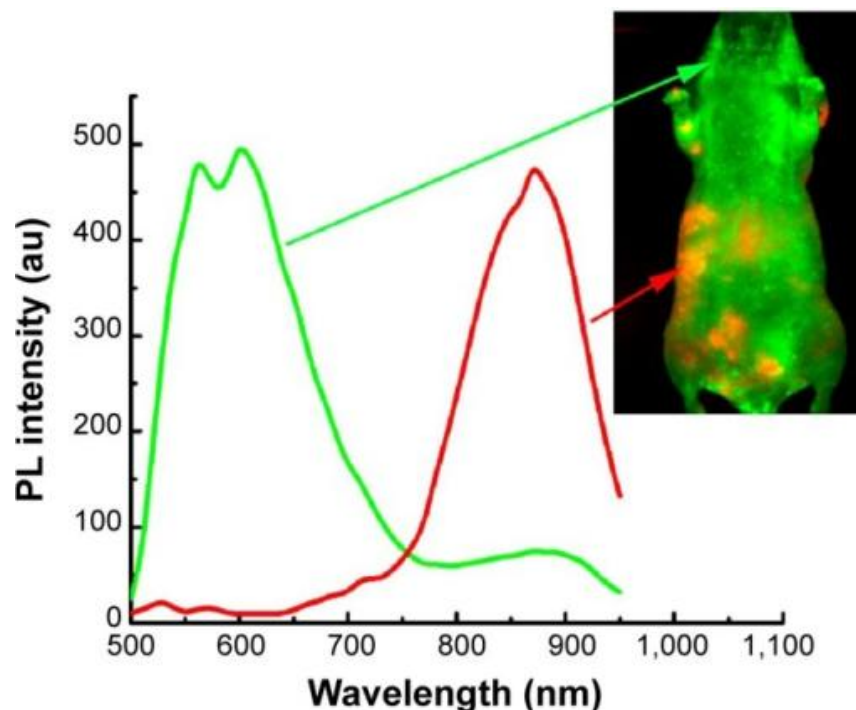
μόνο μειώνει τις παρενέργειες της, αλλά και βελτιώνει την θεραπευτική αποτελεσματικότητα συμπαγών όγκων, λόγω του εκτεταμένου χρόνου κυκλοφορίας της στο αίμα και της ενισχυμένης συγκέντρωσης σε θέσεις-στόχους (Mitra, 2001).

3.6 Ανίχνευση και παρακολούθηση καρκίνου με νανοσκευάσματα

Χάρης τις μοναδικές φυσικές και χημικές τους ιδιότητες, τα νανοσωματίδια έχουν επίσης ερευνηθεί ως συνθετικά ικριώματα απεικόνισης, για την ανίχνευση και παρακολούθηση του καρκίνου και της θεραπείας του. Τα ίδια χαρακτηριστικά που τα καθιστούν μια εξαιρετική πλατφόρμα για την παράδοση φαρμάκων, δηλαδή οι επιφανειακές τους ιδιότητες που επιτρέπουν την σύνθεση υδατικών ενέσιμων διαλυμάτων και την ανάπτυξη συστημάτων ενεργητικής ή παθητικής στόχευσης, τα καθιστούν επίσης ένα ενεργό πεδίο για διαγνωστικές απεικονίσεις. Μια ιδιαίτερη κατηγορία νανοσωματιδίων είναι οι κβαντικές τελείες (QDs), οι ημιαγώγιμοι δηλαδή νανοκρύσταλλοι, που όπως έχει ήδη αναφερθεί, αποτελούν την πλέον πολυπόθητη τάξη ανιχνευτών φωτάγειας, με ποικίλες βιολογικές και βιοϊατρικές εφαρμογές.

Παρόμοια με τα άλλα νανοσωματίδια, οι κβαντικές τελείες μπορούν να τροποποιηθούν μέσω σύζευξης διαφόρων επιφανειακών μορίων, ώστε να χρησιμοποιηθούν για στοχευμένη απελευθέρωση φαρμάκων (Howarth, 2005). Έχουν επίσης επαρκή επιφάνεια για την προσάρτηση θεραπευτικών παραγόντων για ταυτόχρονη απελευθέρωση φαρμάκου και *in vivo* απεικόνιση. Η *in vivo* στόχευση του καρκίνου και η απεικόνιση του με την χρήση QDs αναφέρεται πρώτη φορά στην μελέτη του Gao et al., το 2004 (Gao X. C., 2004). Έκτοτε, η χρήση των κβαντικών τελειών για την αντιμετώπιση του καρκίνου είναι πολύ συχνή, αφού με τη σύζευξη διαφόρων μορίων στην επιφάνειά τους μπορούν να παράσχουν εναλλακτικές λύσεις θεραπείας. Επίσης, λόγω των μοναδικών τους ιδιοτήτων, συμπεριλαμβανομένων των υψηλών επιπέδων φωτοσταθερότητας, της ρύθμισης του μεγέθους τους και της ικανότητας μεταφοράς πολλαπλών διαγνωστικών ή/και θεραπευτικών παραγόντων, η εφαρμογή τους στις τρέχουσες θεραπείες είναι επιβεβλημένη. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι οι κβαντικές τελείες υπερύθρων (Near-infrared Quantum Dots, NIR QDs) έχουν αναδειχθεί ως ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο σε αναλυτικές εφαρμογές, ειδικά για *in vivo* απεικόνιση και θεραπεία. Τα NIR QDs επιτρέπουν τη διείσδυση φωτονίων στους ιστούς και ελαχιστοποιούν τις επιδράσεις του αυτοφθορισμού τους. Αυτή είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος για την ανίχνευση ή την αναγνώριση

διαφόρων ουσιών σε πολύπλοκα βιολογικά δείγματα και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιείται στον εντοπισμό και την απεικόνιση καρκινικών όγκων (Ma, 2010).



Εικόνα 3.4: In vivo απεικόνιση ποντικού που φέρει παγκρεατικό όγκο. Ο αυτοφθορισμός υποστρώματος (από τους ιστούς, το δέρμα και την τροφή) είναι ψευδοχρωματισμένος πράσινος, ενώ το σήμα NIR QDs, που υποδεικνύει τον όγκο, είναι ψευδοχρωματισμένο κόκκινο.

Πηγή: Passive tumor targeting and imaging by using mercaptosuccinic acid-coated near-infrared quantum dots, (2015)

ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

Γενικά

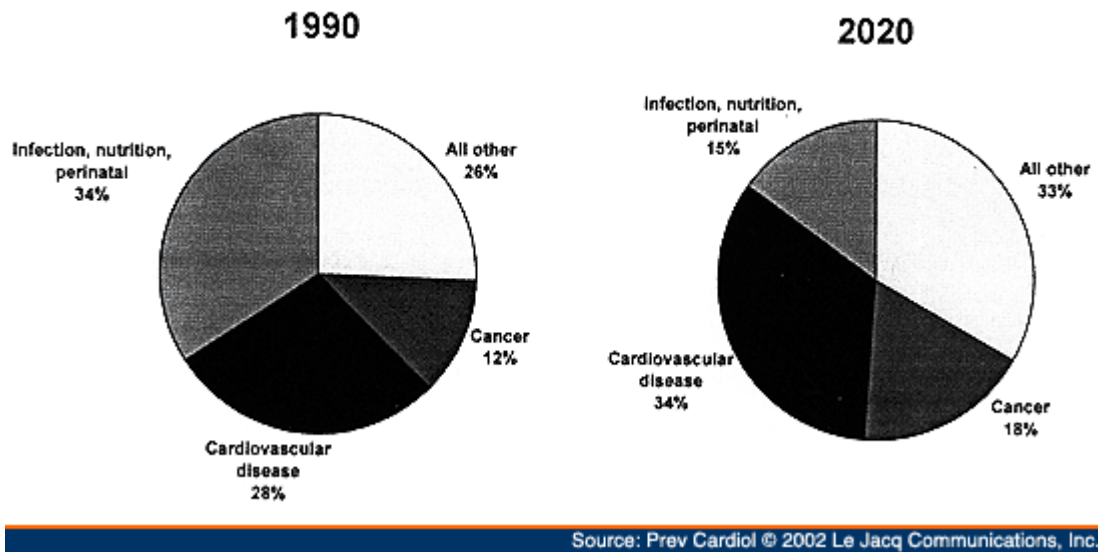
Η μειωμένη ενδοθηλιακή λειτουργία που ακολουθείται από φλεγμονή του τοιχώματος του αγγείου οδηγεί σε σχηματισμό αθηροσκληρωτικών βλαβών, προκαλώντας έμφραγμα του μυοκαρδίου και εγκεφαλικό επεισόδιο. Η αύξηση των κύριων παραγόντων κινδύνου, όπως η παχυσαρκία και ο διαβήτης σε βιομηχανικές αλλά και αναπτυσσόμενες χώρες, εντείνει περαιτέρω το πρόβλημα των αγγειακών παθήσεων. Η καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί να είναι το αποτέλεσμα μεγάλων εμφραγμάτων του μυοκαρδίου ή μπορεί να προκληθεί από γενετική προδιάθεση ή μολυσματική ασθένεια. Στα σοβαρότερα στάδια, οι ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια έχουν προσδόκιμο ζωής που είναι παρόμοιο με τους επιθετικούς καρκίνους. Λόγω της αυξανόμενης ηλικίας του πληθυσμού, η συχνότητα εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας

αυξάνεται ακόμη περισσότερο. Κατά συνέπεια, η διεύρυνση των παραγόντων κινδύνου από τις μεταβολικές ασθένειες και την ηλικία αυξάνει αντίστοιχα και την πιθανότητα για αγγειακές και καρδιακές παθήσεις και αποτελεί πρόκληση για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων πρόληψης, διάγνωσης και θεραπείας (Dimmeler, 2011).

3.7 Νανοεφαρμογές στα Καρδιαγγειακά Νοσήματα

Παρά τις σημαντικές κλινικές εξελίξεις στο πεδίο, οι καρδιαγγειακές παθήσεις (Cardiovascular Diseases, CVD), οι οποίες περιλαμβάνουν διάφορες διαταραχές του αγγειακού συστήματος και της καρδιάς, καθώς και τα εγκεφαλικά επεισόδια, παραμένουν η κύρια αιτία θανάτου στις ΗΠΑ και μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου και αναπηρίας στον υπόλοιπο ανεπτυγμένο κόσμο. Οι διάφορες εκστρατείες ενημέρωσης σχετικά με την σωστή διατροφή, την άσκηση, την διακοπή του καπνίσματος και τον προληπτικό έλεγχο, δεν έχουν επιφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα και, ως εκ τούτου, η έρευνα εδώ και πολλές δεκαετίες στρέφεται γύρω από την πρόληψη και την θεραπεία των καρδιαγγειακών συνδρόμων.

Με βάση τα στατιστικά στοιχεία του NIH (National Institutes of Health) και της AHA (American Heart Association), περίπου 80 εκατομμύρια άνθρωποι στις ΗΠΑ υποφέρουν από καρδιαγγειακά νοσήματα και πάνω από το 35% των θανάτων αποδίδονται σε αυτά (<http://www.nhlbi.nih.gov>; www.americanheart.org). Ανάλογο είναι και το ποσοστό θανάτων παγκοσμίως. Η τελευταία αποτελεσματική τεχνική που αναπτύχθηκε για να αντιμετωπίσει τα CVD, έλαβε χώρα μια δεκαετία πριν, με την κατασκευή του στεφανιαίου stent από την Palmaz & Schatz-FDA, το οποίο πήρε έγκριση το 1994. Έκτοτε, η κλινική ιατρική βασίστηκε στις νέες θεραπείες μέσω φαρμακολογικών θεραπειών τύπου στατινών, βήτα αναστολέων και διουρητικών, καθώς και σε βελτιώσεις με χειρουργική παρέμβαση, όπως για παράδειγμα η διαδερμική διαλυτική αγγειοπλαστική στεφανιαίας (Percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA), την αορτοστεφανιαία παράκαμψη (Coronary Artery Bypass Grafting, CABG), κλπ. Ωστόσο, οι τρέχουσες τεχνικές για την έγκαιρη ανίχνευση των νοσημάτων που σχετίζονται με τα CVD, καθώς και οι προτεινόμενες θεραπείες είναι περιορισμένες, ενώ η αποτελεσματικότητά τους κρίνεται αμφισβητήσιμη (Godin, 2010).



Εικόνα 3.5: Διαγράμματα κατανομής βασικών αιτιών θανάτου παγκοσμίως για το 1990 και το 2020. Πηγή: Reducing the Global Burden of Cardiovascular Disease: The Role of Risk Factors, (2002).

Ενθαρρυντικά είναι, ωστόσο, τα τελευταία δεδομένα από την αντικατάσταση ή υποκατάσταση των συμβατικών θεραπειών και μεθόδων διάγνωσης των καρδιαγγειακών παθήσεων με συστήματα και τεχνικές της νανοϊατρικής τεχνολογίας. Οι νέοι εμφυτεύσιμοι νανοηλεκτρονικοί βιοαισθητήρες, η διανομή φαρμακευτικών σκευασμάτων που λειτουργούν στοχευμένα και οι αγγειακές προθέσεις stents με νανοϊνες, είναι μερικές από τις πολύτιμες νέες εφαρμογές στο πεδίο των CVD. Η εμπιστοσύνη από μέρους των θεραπόντων προς τις διατάξεις και τα θεραπευτικά σκευάσματα, σχεδιασμένων στη νανοκλίμακα, έγκειται στο γεγονός ότι έχουν επιδείξει σημαντική πρόοδο και αποτελεσματικότητα, σε σχέση πάντα με τις συμβατικές θεραπείες. Για παράδειγμα, η χορήγηση καρδιαγγειακών θεραπευτικών παραγόντων με νανოსωματίδια έχει αποδειχθεί πως μπορεί να ενισχύσει την συγκέντρωσή τους στον προσβεβλημένο ιστό, να μειώσει τη δοσολογία και να προστατεύσει το φάρμακο από μεταβολισμό (Godin, 2010). Αυτό οφείλεται, σε μεγάλο βαθμό, στην ικανότητα δημιουργίας πολυλειτουργικών νανοαντιδραστηρίων που φέρουν συνδυασμούς στόχων, διαγνωστικών και θεραπευτικών οντοτήτων, επιτρέποντας έτσι την προσαρμογή των ιδιοτήτων των συνθετικών νανοϋλικών, με σκοπό την εφαρμογή τους στα βιολογικά συστήματα.

3.7.1 Νανοςωματίδια και Αθηροσκλήρωση

Από τα καρδιαγγειακά σύνδρομα, η αθηροσκλήρωση έχει λάβει την μεγαλύτερη προσοχή από τους ερευνητές, λόγω του αριθμού των επιβλαβών συνεπειών που προκύπτουν από τη ρήξη των

φλεγμονωδών πλακών. Πρόκειται για αλλοίωση, η οποία ξεκινά από νεαρή ηλικία, και αφορά στην προοδευτική εναπόθεση πλάκας στις μεγάλες αρτηρίες του σώματος. Όταν μια τέτοια πλάκα γίνεται αρκετά μεγάλη στη στεφανιαία αρτηρία, μπορεί να ακολουθήσει ισχαιμία του μυοκαρδίου ή έμφραγμα (Ambesha, 2017).

Κλινικά, υπάρχει ανάγκη να εντοπιστούν ευάλωτες αλλοιώσεις πριν από την εμφάνιση των συμπτωμάτων, προκειμένου η πιθανότητα επιδιόρθωσης να είναι υψηλή. Η νανοϊατρική μπορεί να είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για τη θεραπεία της, δεδομένου ότι η παθογένεση της αθηροσκλήρωσης ξεκινά σε κυτταρικό επίπεδο και, ως εκ τούτου, μόνο οι εφαρμογές της μπορούν να είναι αποτελεσματικές σε αυτές τις κλίμακες μεγέθους. Είναι γεγονός ότι έχουν διερευνηθεί διάφορες στρατηγικές έγκαιρης ανίχνευσης βλαβών, βασισμένες στη νανοτεχνολογία, όπως είναι για παράδειγμα ο φθορισμός ή η ραδιοσήμανση των αντισωμάτων ή άλλων προσδετών, που στοχεύουν σε συγκεκριμένους υποδοχείς (McCarthy, 2010). Τα χρησιμοποιούμενα νανοσωματίδια για την περίπτωση αυτή παρουσιάζουν ιδιότητες κατάλληλες για απεικόνιση, οι οποίες είναι άμεσα εξαρτώμενες από το μέγεθός τους. Τέτοιες είναι για παράδειγμα, όπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι παραμαγνητικές ιδιότητες των οξειδίων του σιδήρου ή οι φθορίζουσες των κβαντικών τελειών. Έτσι, οι συντιθέμενοι νανοπαράγοντες είναι ικανοί να αναγνωρίσουν τα πρώιμα στάδια της ασθένειας, πολύ πριν προλάβει να εκδηλώσει σοβαρά συμπτώματα, κάνοντας χρήση των συμβατικών τεχνικών κλινικής απεικόνισης (π.χ. MRI, PET, SPECT, κλπ.).

Συγκεκριμένα, οι μικροσωματιδιακοί απεικονιστικοί παράγοντες περιλαμβάνουν σωματίδια πορώδους πυριτίου, τα οποία είναι ικανά να ενθυλακώνουν πληθώρα νανοσωματιδίων οξειδίου του σιδήρου σε μία πολύ περιορισμένη μονάδα επιφανείας, εξασφαλίζοντας έτσι καλύτερο απεικονιστικό αποτέλεσμα (Serda R. E., 2009). Τα πολυάριθμα νανοσωματίδια, καθώς και άλλα σωματίδια που είναι υποψήφια για φαγοκυττάρωση από μακροφάγα, προσφέρουν απεικόνιση φλεγμονώδους περιοχής όπου συσσωρεύονται μακροφάγα, όπως είναι και η αθηροσκληρωτική πλάκα (Kooi ME, 2003). Επί του παρόντος, τα νανοσωματίδια που έχουν εγκριθεί από τον FDA για απεικονιστική χρήση περιορίζονται σε τρεις συνθέσεις: IO, AMI-121 (Ferumoxsil), OMP50, και AMI-25 (Feridex). Αυτά στοχεύουν στη γαστρεντερική οδό, το ήπαρ και τον σπλήνα, ενώ η ενέσιμη χορήγηση υψηλών δόσεων σιδήρου αποδείχθηκε μη τοξική στην περίπτωση των συνθέσεων με νανοσωματίδια, λόγω της

βραδείας απελευθέρωσης του ελεύθερου σιδήρου και της αφομοίωσής του από ουσίες που περιέχουν σίδηρο (Corot, 2006).

Σχετικά με την αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης, ο πλέον ενδεδειγμένος τρόπος έως σήμερα είναι η διαδερμική αγγειοπλαστική (Percutaneous Coronary Intervention, PCI) με χρήση μπαλονιού και παράλληλη εμφύτευση ενδοστεφανιαίας πρόθεσης. Ωστόσο, οι μετέπειτα επιπλοκές της PCI, συμπεριλαμβανομένης της εκ νέου επαναστένωσης και θρόμβωσης των αγγείων, καθώς και τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες και ελεύθερων ριζών, κλονίζουν το κύρος της διαχρονικής, επεμβατικής αυτής μεθόδου. Μεταξύ των διαφόρων προσεγγίσεων για την πρόληψη και την αντιμετώπιση των επιπλοκών, κερδίζει έδαφος η χρήση των καινοτόμων επικαλυμμένων ενδοπροθέσεων τρίτης γενιάς με πολυμερικά νανοσωματιδιακά συστήματα μεταφοράς φαρμάκων, τα οποία φαίνεται να αντιμετωπίζουν τα βασικά μειονεκτήματα των προκατόχων τους. Μερικά εκ των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη της επαναστένωσης είναι κυτταροτοξικά που αναστέλλουν την ανάπτυξη κυττάρων λείου μυός (π.χ. paclitaxel, cytarbine, etoposides, doxorubicin), ανταγωνιστές υποδοχέα PDGF (π.χ. tyrphostins), αναστολείς φλεγμονώδους απόκρισης/ανοσοτροποποιητές (π.χ. στεροειδή, διφωσφονικά, κυκλοσπορίνη A) και αντιβιοτικά (π.χ. φουμαγιλλίνη). Άλλα θεραπευτικά με προοπτική είναι εκείνα που επηρεάζουν συγκεκριμένες περιοχές γονιδίων, υπεύθυνων για θρόμβωση ή υπερπλασία του έσω χιτώνα (π.χ. συνθάση προστακυκλίνης και κινάση θυμιδίνης). Στην περίπτωση των γενετικών υλικών και άλλων βιομορίων, η ενθυλάκωσή τους σε νανοσωματίδια παρέχει προστασία από την ενζυματική αποικοδόμηση, ενώ παράλληλα προσδίδει ικανότητα παρατεταμένης απελευθέρωσης (Brito, 2007; Buxton, 2009).

3.7.2 Νανοσωματίδια και Θρόμβωση

Οι προσεγγίσεις της νανοϊατρικής έχουν εφαρμοστεί επίσης στη θεραπεία της θρόμβωσης. Ο σχηματισμός θρόμβου αρχίζει με βλάβη στην ενδοθηλιακή επένδυση των αιμοφόρων αγγείων, εκθέτοντας έτσι το υποενδοθήλιο στις πρωτεΐνες και τα αιμοπετάλια πήξης, τα οποία προσκολλώνται και σχηματίζουν το αρχικό αιμοστατικό πώμα. Αυτός ο θρόμβος εν συνεχεία ενισχύεται δια της εναποθέσεως αδιάλυτου ινώδους και άλλων παραγόντων πήξεως.

Έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμες στρατηγικές ανίχνευσης με βάση μικρά μόρια για τη μοριακή απεικόνιση θρομβογένεσης, συμπεριλαμβανομένων των πεπτιδίων και των αντισωμάτων που είναι επισημασμένα με φθοροφόρα ή ραδιονουκλίδια. Λόγω του μικρού

μεγέθους των θρομβογενών πρωτεϊνών, η ανάγκη παρατήρησής τους από ένα εργαλείο απεικόνισης υψηλής ανάλυσης, για μελέτες βιολογικών και μη βιολογικών αλληλεπιδράσεων σε πραγματικό χρόνο, φαίνεται επιτακτική. Μια προηγμένη τεχνική που εφαρμόζεται σήμερα ευρέως είναι η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM), η οποία χρησιμοποιείται για την απεικόνιση μικροσκοπικών χαρακτηριστικών στις επιφάνειες των δειγμάτων, δίνοντας εικόνες υψηλής ανάλυσης γύρω από την περιοχή των 5nm περίπου. Η νανοϊατρική σε αυτό το σημείο μπορεί να παρέχει αναλυτικά εργαλεία με μεγαλύτερη ευαισθησία για την κατανόηση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα σε κυτταρικό επίπεδο, οδηγώντας στην αποσαφήνιση των μηχανισμών θρόμβωσης. Η μικροσκοπία ατομικής δύναμης (Atomic Force Microscopy, AFM) είναι ένα αντιπροσωπευτικό παράδειγμα τέτοιου εργαλείου, αφού μπορεί να δώσει αναλύσεις μικρότερες του 1nm, οι οποίες επιτρέπουν την απεικόνιση βιολογικών δομών στη νανοκλίμακα (κυττάρων, πρωτεϊνών, κλπ.). Με αυτόν τον τρόπο διευκολύνεται η συνολική ανάλυση της συμπεριφοράς των αιμοπεταλίων και ο βαθμός ενεργοποίησής τους, παράλληλα με την ανάλυση των θρομβογενών πρωτεϊνών και των παραγόντων που επηρεάζουν τη διαμόρφωση και την λειτουργία τους (π.χ. η θερμοκρασία), οι οποίες θεωρούνται πρόδρομοι για τον σχηματισμού θρόμβων (Karagkiozaki, 2016).

Σχετικά με την θεραπεία των θρομβώσεων, έχουν αναφερθεί λίγες προσεγγίσεις που να βασίζονται στη χρήση νανοσωματιδίων με εστίαση στο θρόμβο. Μία ερευνητική ομάδα προέβη στη χρήση νανοσωματιδίων οξειδίου του σιδήρου για μαγνητική-στοχευμένη απελευθέρωση θρομβολυτικών σκευασμάτων. Όπως ξέρουμε, η μαγνητική στόχευση συνεπάγεται την εφαρμογή ενός μαγνητικού πεδίου στη θέση ενδιαφέροντος, ακολουθούμενη από την έγχυση του παρασκευάσματος μαγνητικών νανοσωματιδίων. Καθώς ο παράγοντας περνά μέσα από την κυκλοφορία, συσσωρεύεται εντός του μαγνητικού πεδίου στη θέση-στόχο. Η ομάδα του Ma et al. (Ma Y. H., 2009) συνέθεσε σωματίδια επικαλυμμένα με πολυακρυλικό οξύ, τα οποία συζεύχθηκαν ομοιοπολικά με ανασυνδυασμένο ενεργοποιητή ιστικού πλασμινογόνου (recombinant tissue plasminogen activator, rtPA). Ωστόσο, κατά την χρήση ενεργοποιητών πλασμινογόνου γενικά, η κύρια παρενέργεια είναι η ενδοεγκεφαλική αιμορραγία (Intracranial Hemorrhage, ICH). Ενσωματώνοντας όμως στον rtPA ένα μαγνητικό νανοσωματιδιακό ικρίωμα, παρατηρήθηκε ενίσχυση της συγκράτησής του στη θέση στόχο και μείωση της πιθανότητας αιμορραγίας. Επίσης, σε σύγκριση με το ελεύθερο rtPA, το συζευγμένο παράγωγο έδειξε ισοδύναμη ινωδολυτική αποτελεσματικότητα και αμιδολυτική δραστηριότητα in vitro. Όταν

χρησιμοποιήθηκε *in vivo* σε μοντέλο ισχαιμίας οπίσθιου άκρου αρουραίου, το θρομβολυτικό συζυγές έδειξε πενταπλάσια θρομβολυτική αποτελεσματικότητα από το ελεύθερο rtPA, υπό μαγνητική στόχευση. Ελλείψει μαγνήτη, το συζυγές δεν παρουσίασε αξιόλογη θρομβόλυση (McCarthy, 2010).

Μια παρόμοια προσέγγιση πραγματοποιήθηκε και από την ερευνητική ομάδα του Bi et al. (Bi, 2009). Σε αυτήν συζεύχθηκε ουροκινάση (Urokinase, UK) με αμινο-τροποποιημένο μαγνητικό νανοσωματίδιο, επικαλυμένο με δεξτράνη. Η σύζευξη με την UK έγινε αφού τροποποιήθηκε η επικάλυψη δεξτράνης με γλουταραλδεϋδη. Οι ερευνητές εξέτασαν τον προκύπτοντα νανοπαράγοντα σε μοντέλο αρουραίων Sprague-Dawley, στο οποίο η δεξιά καρωτιδική αρτηρία και η αριστερή σφαγιτιδική φλέβα συνδέονταν απευθείας με σωληνάριο πολυαιθυλενίου, το οποίο περιείχε μεταξωτό σπείρωμα και επί του οποίου σχηματίστηκε ο θρόμβος. Δεκαπέντε λεπτά μετά τον σχηματισμό θρόμβου, οι αρουραίοι έλαβαν φυσιολογικό ορό, ουροκινάση, το συζυγές νανοσωματιδίων ή το σύζευγμα νανοσωματιδίων υπό μαγνητική στόχευση, το οποίο αφέθηκε να κυκλοφορήσει για 30 λεπτά, οπότε αφαιρέθηκε το σπείρωμα, προκειμένου να προσδιοριστεί το υπολειπόμενο βάρος θρόμβου. Ενώ όλες οι θεραπευτικές παρεμβάσεις είχαν ως αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους του θρόμβου, σε σύγκριση με το φυσιολογικό ορό, η μαγνητική στόχευση είχε πενταπλάσια αποτελεσματικότητα από την UK και ήταν 2,6 φορές πιο αποτελεσματική από το μη στοχευόμενο σωματίδιο. Επιπρόσθετα, οι ερευνητές εξέτασαν το υπολειμματικό ινωδογόνο στην κυκλοφορία καθώς και τους χρόνους αιμορραγίας, στους οποίους η μαγνητική στόχευση του νανοπαράγοντα μείωσε σημαντικά τη συστηματική ενεργοποίηση του πλασμινογόνου, ελαχιστοποιώντας έτσι τις αυξήσεις των χρόνων αιμορραγίας (McCarthy, 2010).

ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Γενικά

Το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ), που περιλαμβάνει τον νωτιαίο μυελό και τον εγκέφαλο, είναι το κέντρο συντονισμού και ελέγχου του ανθρώπινου οργανισμού. Επεξεργάζεται τις εισερχόμενες αισθητικές πληροφορίες και δίνει εντολές για τις κατάλληλες αντιδράσεις με βάση τις εμπειρίες του παρελθόντος, τα αντανακλαστικά και τις συνθήκες που επικρατούν τη δεδομένη χρονική στιγμή.

Οι διαταραχές του, που περιλαμβάνουν μια ευρεία κατηγορία καταστάσεων στις οποίες ο εγκέφαλος δεν λειτουργεί όπως πρέπει, μπορούν να επηρεάσουν σοβαρά την υγεία και την λειτουργικότητα του ατόμου, αφού περιορίζουν σε σημαντικό βαθμό ακόμα και τις πλέον βασικές του ικανότητες, όπως είναι αυτή της ομιλίας, της συντονισμένης σκέψης και κίνησης, κ.λ.π. Οι παθήσεις του ΚΝΣ είναι διαφόρων αιτιολογιών. Κάποιες από αυτές, μπορεί να είναι συνέπεια κληρονομικών μεταβολικών διαταραχών ή το αποτέλεσμα μιας προκληθείσας από λοίμωξη βλάβης. Άλλες πάλι, οφείλονται σε κάποια εκφυλιστική κατάσταση, σε εγκεφαλικά επεισόδια, εγκεφαλικούς όγκους ή άλλου τύπου αλλοιώσεις των κυττάρων του εγκεφάλου και, τέλος, είναι δυνατόν να οφείλονται σε άγνωστες ή πολυπαραγοντικές αιτίες. Διαταραχές της κίνησης όπως στη νόσο του Πάρκινσον, η δυστονία και ο ουσιαστικός τρόμος είναι ενδείξεις παθολογικών καταστάσεων του ΚΝΣ. Το κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα των διαταραχών είναι η απώλεια επαρκών, χωρίς αλλοιώσεις κυκλωμάτων του νευρικού συστήματος, που συμμετέχουν στη διεξαγωγή πολύπλοκων λειτουργιών, όπως είναι για παράδειγμα ο σχηματισμός της μνήμης (π.χ. νόσος Alzheimer) ή η συντονισμένη εθελοντική κίνηση (π.χ. σε κινητικές διαταραχές).

Ενώ οι περισσότερες από τις παθήσεις του ΚΝΣ δεν μπορούν να θεραπευτούν πλήρως, ωστόσο, τα συμπτώματά τους είναι δυνατόν να αντιμετωπιστούν μέσω μιας σειράς προσεγγίσεων, που ξεκινούν από απλή χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών και φτάνουν έως και τις σοβαρές χειρουργικές επεμβάσεις (Morishita, 2013). Η αποτυχία των φαρμακευτικών θεραπειών να επιφέρουν την πλήρη ίαση των ασθενειών του ΚΝΣ οφείλεται, κατά κύριο λόγο, στην ίδια την ανατομική δομή του εγκεφάλου. Συγκεκριμένα, κάθε χημική ένωση που επιχειρεί, μέσω της κυκλοφορίας τους αίματος, να προσεγγίσει τον εγκέφαλο, έρχεται αντιμέτωπη με το εμπόδιο του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (Blood Brain Barrier, BBB). Πρόκειται για έναν ηθμό υψηλής εκλεκτικότητας, ο οποίος διαχωρίζει το αίμα από το εξωκυττάριο υγρό του εγκεφάλου, προστατεύοντάς τον έτσι από την εισβολή μικροβίων και άλλων επιβλαβών για τον εγκέφαλο ουσιών. Επειδή όμως, ο πληθυσμός της γης γηράσκει προοδευτικά και οι νευρολογικές διαταραχές, όπως είναι για παράδειγμα οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, οι φλεγμονώδεις νόσοι και οι όγκοι του εγκεφάλου, γίνονται όλο και πιο διαδεδομένες, το ενδιαφέρον της επιστημονικής έρευνας προσανατολίζεται στην ανάπτυξη νέων τεχνικών επιτυχούς παράδοσης φαρμάκων, ξεπερνώντας το εμπόδιο του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (Calvo, 2002).

Γενικά, τα μόρια που διεισδύουν στον BBB είναι λιπόφιλα και έχουν μέγεθος μικρότερο από 500Da (Jain K. K., 2005). Αυτός ο περιορισμός μειώνει στο ελάχιστο τον αριθμό των πιθανών θεραπευτικών εργαλείων που μπορούν να έχουν πρόσβαση στον εγκέφαλο. Η σύγχρονη έρευνα στο πεδίο της νανοβιοτεχνολογίας, όπως έχουμε ήδη αναφέρει, έχει αντίκτυπο στα διαγνωστικά εργαλεία και τους τρόπους παράδοσης φαρμάκων, αναπτύσσοντας μόρια μεγέθους μικρότερου των 100nm, τα οποία φέρουν μοναδικές ιδιότητες. Κατά παρόμοιο τρόπο με τις άλλες ασθένειες, τα συστήματα νανοδιαστάσεων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη θεραπευτική αντιμετώπιση των εγκεφαλικών διαταραχών, αφού καταφέρνουν να υπερνικήσουν το εμπόδιο του BBB. Προκειμένου όμως να αναπτυχθούν ειδικά εγκεφαλικά θεραπευτικά σκευάσματα, είναι απαραίτητο να κατανοηθούν πλήρως τα στοιχεία που αφορούν στη φυσιολογία του φραγμού αίματος-εγκεφάλου, παράλληλα με την μελέτη και κατανόηση των μηχανισμών παθολογίας των νευρολογικών διαταραχών.

3.8 Παθήσεις Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ)

Οι παθήσεις του ΚΝΣ μπορούν να διαχωριστούν ως εξής:

- Στις νευροεκφυλιστικές, οι οποίες αφορούν τις ασθένειες που προσβάλλουν τους νευρώνες του ανθρώπινου εγκεφάλου και είναι κατά βάση ανίατες παθήσεις που επιφέρουν αναπηρία. Οδηγούν στην προοδευτική εκφύλιση ή/και τον θάνατο των νευρικών κυττάρων, προκαλώντας προβλήματα στην κίνηση (αταξία) ή στη νοητική λειτουργία (άνοια). Στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες συμπεριλαμβάνεται η νόσος Alzheimer (AD), καθώς και άλλες μορφές άνοιας, η νόσος του Parkinson (PD) και οι σχετιζόμενες με αυτήν διαταραχές, οι πριονογενείς ασθένειες, οι νόσοι του κινητικού νευρώνα (MND), η νόσος Huntington (HD), η νωτιαιοπαρεγκεφαλιδική αταξία (SCA) και η νωτιαία μυϊκή ατροφία (SMA).
- Στις λοιμώξεις του ΚΝΣ, που μπορούν να προσβάλλουν τον εγκέφαλο, τις μήνιγγες, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, τους περιβάλλοντες ιστούς, τα οστά του κρανίου και της σπονδυλικής στήλης, καθώς και τους χώρους ανάμεσα στις δομές αυτές. Το αίτιο μπορεί να είναι κάποιο μικρόβιο, ιός ή μύκητας. Οι λοιμώξεις μερικές φορές μπορεί να είναι αποτέλεσμα ανοιχτού τραυματισμού, επέκτασης της λοίμωξης από γειτονικούς ιστούς (ωτίτιδες, φλεγμονές των δοντιών κλπ), ή και μετεγχειρητική επιπλοκή. Οι λοιμώξεις μπορεί επίσης να είναι μικροβιακές, παρασιτικές ή μυκητιασικές, ενώ σε αυτές ανήκει

και το επισκληρίδιο απόστημα εγκεφάλου, το υποσκληρίδιο εμπύημα, το ενδοεγκεφαλικό απόστημα και το επισκληρίδιο εμπύημα νωτιαίου μυελού.

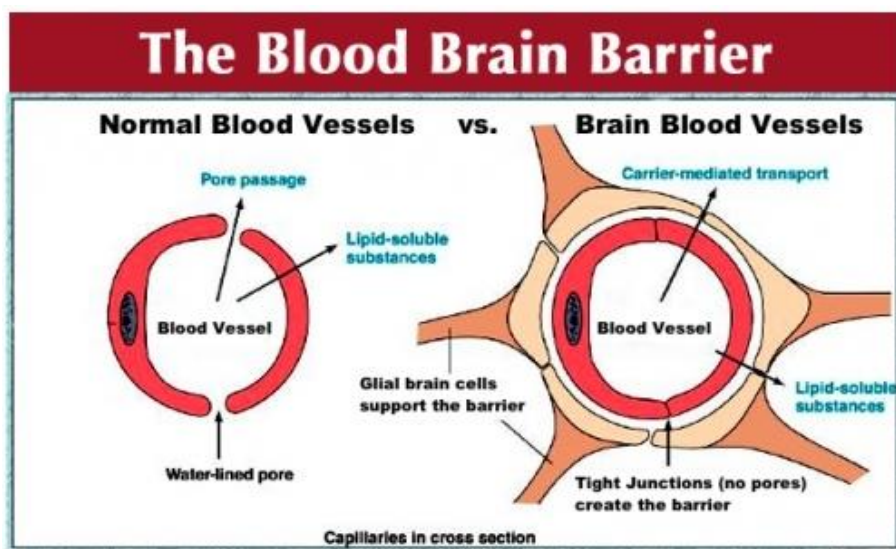
- Στους εγκεφαλικούς όγκους, δηλαδή σε μάζες που αναπτύσσονται εντός της κρανιακής κοιλότητας και δρουν πιέζοντας και παρεκτοπίζοντας τον εγκέφαλο. Διακρίνονται με βάση τη συμπεριφορά τους σε καλοήθεις και κακοήθεις και ανάλογα με την προέλευσή τους σε πρωτοπαθείς και δευτεροπαθείς/μεταστατικούς.
- Άλλες παθήσεις που δεν εμπίπτουν σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες, είτε γιατί είναι άγνωστης αιτιολογίας, είτε γιατί η αιτιολογία τους είναι πολυπαραγοντική.

3.9 Αιματοεγκεφαλικός φραγμός

Όπως προ ειπώθηκε, ο φραγμός αίματος-εγκεφάλου είναι ένας προστατευτικός μηχανισμός που ελέγχει την εγκεφαλική ομοιοστάση και παρέχει στο κεντρικό νευρικό σύστημα μοναδική προστασία έναντι όλων των ξένων ουσιών (Roney, 2005). Αυτό το ανατομικό φράγμα παρεμποδίζει την είσοδο του 98% των μικρών και του 100% των μεγάλων μορίων στον εγκέφαλο. Βρίσκεται στο επίπεδο των τριχοειδών, μεταξύ του αίματος και του εγκεφαλικού ιστού, και χαρακτηρίζεται από την παρουσία στενών ενδοκυτταρικών συνδέσεων (Weiss, 2009; Baratchi, 2008). Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός εντοπίζεται στο επιθήλιο του χοριοειδούς πλέγματος, που ελέγχει την ανταλλαγή μορίων μεταξύ του αίματος και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του εγκεφάλου διαφέρουν ελαφρώς από τους άλλους ιστούς, επειδή δεν διαθέτουν θυλακώσεις, καθώς και εξαιτίας του γεγονότος ότι ενώνονται μεταξύ τους με στενές συνδέσεις (Roney, 2005; Weiss, 2009). Εκφράζουν μεμβρανικούς υποδοχείς υπεύθυνους για τη δραστική μεταφορά θρεπτικών ουσιών στον εγκέφαλο και την απέκκριση δυνητικά τοξικών ενώσεων από τα εγκεφαλικά και αγγειακά διαμερίσματα. Το ενδοθήλιο του εγκεφάλου των θηλαστικών έχει εξαιρετικά ελεγχόμενη διαπερατότητα έναντι των πλασματικών ενώσεων και των ιόντων και επίσης, διαθέτει υψηλή διενδοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση. Δυσλειτουργία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού παρατηρείται σε πολλές νευρολογικές διαταραχές. Η μικροαγγείωση του εγκεφάλου, απουσία του BBB, θα μπορούσε να αποτελεί τον ιδανικότερο τρόπο πρόσβασης στον εγκέφαλο, αφού θα παρείχε τη δυνατότητα διανομής μορίων σε όλες, ανεξαιρέτως, τις περιοχές του. Ο όγκος που καταλαμβάνεται από τα τριχοειδή αγγεία και τα ενδοθηλιακά κύτταρα αντιστοιχεί περίπου στο 1% του συνολικού όγκου του εγκεφάλου

και, συνεπώς, η εγκεφαλική μικροαγγείωση έχει συνολική επιφάνεια περίπου 20m^2 . Αυτό το εξαιρετικά αγγειοποιημένο δίκτυο τοποθετεί χωροταξικά το κάθε εγκεφαλικό κύτταρο σε απόσταση περίπου 20nm από ένα τριχοειδές αγγείο. Τούτο πρακτικά σημαίνει ότι, ξεπερνώντας το εμπόδιο του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, θα ήταν δυνατή και αποτελεσματική η ταχεία διάχυση μικρών μορίων στον εγκέφαλο. Ωστόσο, κάτι τέτοιο περιορίζεται σημαντικά από τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του (Weiss, 2009).



Εικόνα 3.6: Αιματοεγκεφαλικός φραγμός: αριστερά αναπαρίσταται ένα κοινό τριχοειδές αγγείο, στο οποίο διακρίνεται η ανεμπόδιστη κυκλοφορία ουσιών και μορίων διαμέσου των πόρων. Αντίθετα, δεξιά είναι ορατές οι στενές συνδέσεις αντίστοιχου εγκεφαλικού τριχοειδούς, οι οποίες επιτρέπουν τη διέλευση μόνο συγκεκριμένων ουσιών. Στην προκειμένη περίπτωση, λιπόφιλων μορίων. Γλοιοκύτταρα ενισχύουν την φυσιολογία του φραγμού.

Πηγή: Blood-Brain Barrier & The Spinal Cord, (2016)

3.9.1 Αιματοεγκεφαλικός φραγμός και θεραπευτικές ουσίες

Εκτός από τον ρόλο του ως φυσικό εμπόδιο εισόδου «ανεπιθύμητων» ουσιών στον εγκέφαλο, ο BBB παρέχει επιλεκτική μεταφορά μικρών μορίων, πολυπεπτιδίων, ακόμη και κυττάρων, στο ΚΝΣ. Συγκεκριμένα, οι θρεπτικές ουσίες και οι ενδογενείς ενώσεις που απαιτούνται από το ΚΝΣ, όπως τα αμινοξέα, η γλυκόζη, τα λιπαρά οξέα, οι βιταμίνες, τα ανόργανα άλατα, οι ηλεκτρολύτες κλπ., μεταφέρονται αποτελεσματικά στον εγκέφαλο, μέσω πολυάριθμων συστημάτων κορεσμού που εκφράζονται στο BBB (Davson, 1996). Αρχικά περιορίζοντας και κατόπιν προωθώντας επιλεκτικά τη μεταφορά ουσιών, ο BBB δρα ως ρυθμιστική μεμβράνη, η οποία καθορίζει σε μεγάλο βαθμό το ομοιοστατικό και θρεπτικό περιβάλλον του ΚΝΣ. Επίσης,

συμμετέχει στην επικοινωνία του εγκεφάλου και του περιφερικού ιστού, επιτρέποντας τη διέλευση ορισμένων πεπτιδίων και ρυθμιστικών πρωτεϊνών του ΚΝΣ (Kabanova, 2007).

Εκμεταλλεόμενοι το γεγονός της επιλεκτικής εισόδου ουσιών στον εγκέφαλο, η έρευνα για την αντιμετώπιση των νευρολογικών παθήσεων κατευθύνθηκε αρχικά στην ανάπτυξη ανθρωπογενών πολυμερών για ελεγχόμενη απελευθέρωση θεραπευτικών παραγόντων. Αναπτύχθηκαν έτσι πολυάριθμα πολυμερή υλικά και συσκευές για την παροχή φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των μεμβρανών, των δισκίων, των πηκτωμάτων, των μικροσφαιριδίων και άλλων. Κάποια υλικά, όπως για παράδειγμα τα ενδοκρανιακά πολυμερή εμφυτεύματα ερευνήθηκαν για παρατεταμένη απελευθέρωση θεραπευτικών μορίων στον εγκέφαλο, κυρίως, στην αγωγή κατά των εγκεφαλικών όγκων. Ωστόσο, οι συμβατικές προσεγγίσεις τοπικής απελευθέρωσης αποδείχθηκαν αναποτελεσματικές, εφόσον η διεισδυτικότητά τους παρεμποδίστηκε από τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις των εμφυτευμάτων, παράλληλα με την περιορισμένη κατανομή των θεραπευτικών μορίων γύρω από τη θέση εμφύτευσης (Kabanova, 2007).

Συνέπεια της μη επιτυχημένης προσπάθειας χορήγησης φαρμάκων για την θεραπεία των νοσημάτων του ΚΝΣ, ήταν η ανάπτυξη θεραπευτικών σκευασμάτων με την χρήση νανοσωματιδίων, τα οποία έχουν δυνητικά την ικανότητα να ξεπερνούν τα εμπόδια του καλά θωρακισμένου νευρικού συστήματος. Αυτά είναι κυρίως φάρμακα χαμηλού μοριακού βάρους ή θεραπευτικές πρωτεΐνες που συνδέονται χημικά με υδατοδιαλυτά πολυμερή για να αυξάνουν τη διαλυτότητα και τη σταθερότητα του φαρμάκου ή να επιτύχουν την ειδική μεταφορά των φαρμάκων στους ιστούς-στόχους, που επηρεάζονται από την ασθένεια. Τα νέα συστήματα εμφανίζουν συχνά ομοιότητα στο μέγεθος και τη δομή με φυσικούς φορείς όπως είναι οι ιοί και οι λιποπρωτεΐνες ορού και προσφέρουν πολύπλευρες ειδικές ιδιότητες, χρήσιμες σε εφαρμογές ελεγχόμενης αποδέσμευσης απεικονιστικών και θεραπευτικών παραγόντων στο ΚΝΣ.

Έτσι, παρόλο που ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός θέτει σοβαρό περιορισμό στην χορήγηση θεραπευτικών ουσιών, ωστόσο όταν διαταραχθεί η ακεραιότητά του ή όταν τροποποιηθούν τα χαρακτηριστικά ενός μορίου φαρμάκου που επιχειρεί είσοδο στον εγκέφαλο, τότε το σύστημα αυτό δύναται να χαλαρώσει και η εισδοχή να καταστεί δυνατή. Για παράδειγμα, η χορήγηση αναλόγων της βραδυκινίνης παράγει οσμωτική πίεση, ανοίγοντας έτσι τις στενές ενώσεις του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, επιτρέποντας την παρακυτταρική μεταφορά φαρμάκου. Επίσης, έχει αναφερθεί πως η διαπερατότητα των φαρμάκων ενισχύεται

μετά από χορήγηση υπεροσμωτικού διαλύματος αραβινόζης (Rapoport S. I., 1978). Παρόλα αυτά, οι τροποποιήσεις δεν είναι πάντοτε θετικές για τον οργανισμό, εφόσον η διατάραξη της ομοιόστασης μπορεί να επιτρέψει, εκτός από τις επιθυμητές θεραπευτικές ενώσεις, και την είσοδο ανεπιθύμητων τοξικών μορίων, οδηγώντας σε επικίνδυνες παρενέργειες. Ως εκ τούτου, η στοχευμένη παράδοση νανοσωματιδίων είναι το τρέχον επίκεντρο της ερευνητικής προσοχής, καθώς ο πρωταρχικός στόχος των στοχοθετημένων συστημάτων χορήγησης είναι η εναπόθεση του διαγνωστικού ή θεραπευτικού παράγοντα σε μια συγκεκριμένη περιοχή.

3.10 Νανοσωματιδιακή στόχευση εγκεφάλου

Η αποτελεσματική φαρμακευτική στόχευση του εγκεφάλου απαιτεί, εκτός από την κατανόηση της φυσιολογίας και της ανατομίας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, την τροποποίηση των νανοσωματιδίων με τέτοιο τρόπο, ώστε να αναγνωρίζονται από αυτόν ως ουσίες μη «εχθρικές» για τον εγκέφαλο και έτσι να λαμβάνουν έγκριση εισόδου. Όπως συμβαίνει στα περισσότερα φάρμακα, έτσι και στους θεραπευτικούς παράγοντες που στοχεύουν στον εγκέφαλο, η τροποποίηση της επιφάνειας του νανοφορέα επιτυγχάνεται με την πρόσδεση σε αυτήν ενός αναγνωριστικού μορίου, όπως για παράδειγμα ενός αντισώματος. Ειδικά για τον εγκέφαλο αντισώματα μπορεί να είναι τα OX26 ή/και ο υποδοχέας τρανσφερίνης. Το σύζευγμα αντισώματος-φαρμάκου αναγνωρίζει ένα ειδικό πρόσδεμα (τον υποδοχέα της τρανσφερίνης σε αυτή την περίπτωση) και διασχίζει το φράγμα αίματος-εγκεφάλου με ενδοκυττάρωση διαμέσου του υποδοχέα. Τα αντισώματα είναι τα πλέον επιτυχημένα εργαλεία για την στόχευση του φραγμού αίματος-εγκεφάλου, χάρη στην ικανότητά τους για ειδική δέσμευση (Kanwar, 2012). Σύμφωνα με τα δημοσιευμένα δεδομένα, χημειοθεραπευτικά φάρμακα όπως η μεθοτρεξάτη και πρωτεΐνες όπως ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών, ο παράγοντας ανάπτυξης νεύρων και ο νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο, μεταφέρονται με επιτυχία σε αυτόν κατά τη σύζευξή τους με το αντίσωμα υποδοχέα τρανσφερίνης (Pardridge, 1995). Μια άλλη περίπτωση τροποποίησης της επιφάνειας που χρησιμοποιείται για τη χορήγηση ραδιοφαρμακευτικών προϊόντων είναι το [^{125}I] -Αβ, η πρόσληψη του οποίου είναι σημαντικά αυξημένη κατόπιν σύζευξης με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του υποδοχέα ανθρώπινης ινσουλίνης (Kanwar, 2012).

Για να επιτευχθεί υψηλή εξειδίκευση, η επιφάνεια των νανοσωματιδίων μπορεί να τροποποιηθεί, εκτός από την σύζευξή της με αντισώματα, και με επικάλυψή της με διάφορες

επιφανειοδραστικές ουσίες (Hu, 2009; Kreuter, 2001). Οι φυσικοχημικές και βιοχημικές ιδιότητες των τελευταίων, καθορίζουν κατά κύριο λόγο την εξειδίκευση της στόχευσης, όπως παρατηρείται για παράδειγμα στην επικάλυψη νανοσωματιδίων με πολυσορβικό 80. Αναφορές υπογραμμίζουν ότι με την συγκεκριμένη ουσία τα επικαλυμμένα νανοφάρμακα παρουσίασαν αποδοτική εγκεφαλική παράδοση. Ένας άλλος επιφανειοδραστικός παράγοντας που θεωρείται ότι έχει την ικανότητα ενίσχυσης της διαπερατότητας του εγκεφάλου είναι το poloxamer 188 F68), το οποίο, όπως παρατηρήθηκε, αυξάνει την παροχή νανοσωματιδίων πολυβουτυλοκυανοακρυλικού και πολύ (λακτιδίου-συν-γλυκολιδίου) (PLGA) στον εγκέφαλο ποντικών (Petri, 2007; Gelperina, 2010).

3.11 Νανοφάρμακα για τη διάγνωση και θεραπεία των παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος

Η τρέχουσα κατάσταση, όσον αφορά στη διάγνωση και θεραπευτική αντιμετώπιση των νοσημάτων του ΚΝΣ, χαρακτηρίζεται από την προσπάθεια για στοχευμένη παράδοση φαρμακευτικών ουσιών με τη βοήθεια τροποποιημένων νανοφορέων. Ο υποδοχέας τρανσφερίνης έχει κερδίσει την προσοχή της έρευνας, καθόσον ευνοεί την ενδοκυττάρωση μέσω του ενδοθηλίου των τριχοειδών του εγκεφάλου. Αν και οι θεραπείες για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες δεν έχουν ευοδώσει, ωστόσο τα πρώιμα ερευνητικά αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά. Ένα καλό παράδειγμα αποτελεί το Tempol, μια σταθερή, συνθετική ένωση που μιμείται το ένζυμο υπεροξειδίου της δισμουτάσης. Σύμφωνα με τους επιστήμονες, η συγκεκριμένη ουσία ενθυλακωμένη σε επιφανειακά τροποποιημένα με τρανσφερίνη PLGA νανοσωματίδια, μπορεί να έχει εφαρμογή στην νόσο του Alzheimer και του Parkinson (Carroll, 2010).

Σημαντικά αποτελέσματα ελήφθησαν επίσης, από την σύζευξη λακτοφερρίνης με την επιφάνεια δενδριμερών πολυαμιδοαμίνης (PAMAM). Το σύμπλοκο που προέκυψε παρουσίασε αυξημένη πρόσληψη από το ενδοθήλιο των τριχοειδών του εγκεφάλου, μέσω των υποδοχέων λακτοφερρίνης (Huang, 2010). Μια άλλη επιτυχημένη δοκιμή αφορά στα πολυμερικά νανοσωματίδια χιτοζάνης, τα οποία τροποποιημένα με αντι-αμυλοειδή αντισώματα (anti-amyloid antibody IgG4.1), φαίνεται να έχουν αυξημένη πρόσληψη από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό σε in vitro μοντέλα, υποδεικνύοντας τη δυναμική της στοχευμένης χορήγησης φαρμάκου στη νόσο του Alzheimer (Agyare, 2008). Όμοια, τροποποιημένα με τριμεθυλιωμένη

χιτοζάνη-συνένζυμα Q10, φορτωμένα σε PLGA νανοσωματίδια, παρουσίασαν και αυτά ενισχυμένη νευροπροστατευτική δράση σε *in vivo* μοντέλα ποντικών με νόσο του Alzheimer (Wang Z. H., 2010).

Πρόοδος έχει σημειωθεί και στους τρόπους διάγνωσης των ασθενειών του ΚΝΣ. Συγκεκριμένα, κατά τη σύζευξη του μονοκλωνικού αντισώματος antitau με νανοσωματίδια χρυσού, το σύζευγμα έδειξε εξαιρετική ευαισθησία ανίχνευσης 1 pg/mL πρωτεΐνης tau (Neely, 2009). Επίσης, τα δενδριμερή PAMAM τροποποιήθηκαν με Angiorep-2 για επιλεκτική χορήγηση γονιδίου σε *in vitro* και *in vivo* μοντέλα γλοιώματος. Η θεραπευτική ικανότητα του παραχθέντος συστήματος κρίθηκε ελπιδοφόρα, εφόσον δεν παρατηρήθηκε κυτταροτοξικότητα κατά την χορήγησή του, ενώ η διαπερατότητά του στην περιοχή του εγκεφαλικού όγκου ήταν η μέγιστη δυνατή. Οι ερευνητές ισχυρίζονται ότι το Angiorep-2 συνδεδεμένο με κατάλληλα νανοσωματίδια μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ειδική παράδοση φαρμάκων στον εγκέφαλο, δεδομένου ότι τα συζεύγματα έχουν την ιδιότητα να προσροφούν λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας και να υφίστανται ενδοκυττάρωση με υποδοχέα που μιμείται τις ενδογενείς λιποπρωτεΐνες (Huang S, 2011). Παρομοίως, συζεύγματα χλωροτοξίνης με PAMAM νανοσωματίδια, στα οποία έχει προσδεθεί DNA, έδειξαν σημαντική *in vivo* πρόσληψη από μοντέλα γλοιώματος (Huang R. K., 2011). Ακόμη, έγινε προσπάθεια τροποποίησης της δέσμευσης νανοσωματιδίων PEG-PCL με Angiorep-2 και EGFP-EGF1. Η EGFP-EGF1 είναι μια πρωτεΐνη σύντηξης που προέρχεται από τον παράγοντα πήξης VII. Δεσμεύεται ειδικά στον ιστικό παράγοντα, ο οποίος υπερεκφράζεται στα νευρογλοιακά κύτταρα. Αυτό το συζυγές παρατηρήθηκε πως διευκολύνει τη διείσδυση στον εγκέφαλο, καθώς και την εκλεκτική συσσώρευση νανοσωματιδίων στα συγκεκριμένα κύτταρα. Η πρακτική αυτή θα μπορούσε να θεωρηθεί εφαρμοστέα και αποτελεσματική στη θεραπεία του γλοιώματος (Huile, 2011).

Πολυβουτυλκυανοακρυλικά νανοσωματίδια επικαλυμμένα με πολυσорβικό 80 έδειξαν αυξημένη απελευθέρωση της τεμοζολομίδης κατά την στόχευση εγκεφαλικών όγκων *in vivo* (Tian, 2011). Άλλη ενδιαφέρουσα μελέτη απέδειξε την ενίσχυση της αντιγλοιοματικής θεραπείας με την χρήση ενθυλακωμένης πακλιταξέλης σε PEG-PLGA νανοσωματίδια συζευγμένα με DNA απταμερές (AS1411) έναντι νουκλεολίνης, η οποία υπερεκφράζεται στα γλοιώματα (Guo, 2011). Επιπλέον, η πρόσδεση πεπτιδίων ιντερλευκίνης-13 στην επιφάνεια νανοσωματιδίων θα μπορούσε να ενισχύσει την στοχευμένη παράδοση στα κύτταρα γλοιώματος, τα οποία υπερεκφράζουν τον υποδοχέα της ιντερλευκίνης-13 (Fillmore, 2011). Κατά παρόμοιο

τρόπο, PEG-PLGA νανοσωματίδια ομοιοπολικά τροποποιημένα με Per TGN (α 12-πεπτίδιο αμινοξέος) παρουσίασαν αυξημένη διεισδυτικότητα στον εγκέφαλο με ταυτόχρονη μειωμένη συσσώρευση στο ήπαρ και σπλήνα *in vivo*. Η σπουδαιότητα αυτής της μελέτης έγκειται στο γεγονός ότι η εγκεφαλική χορήγηση του Per TGN δεν έχει αναφερθεί ποτέ στο παρελθόν (Li, 2011).

Κάτι εξίσου ενδιαφέρον, με πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα, είναι η προσπάθεια στοχευμένης χορήγησης φαρμάκου σε νευροφλεγμονές, η οποία κατέστη δυνατή με την παρασκευή νανοσωματιδίων PLGA συζευγμένων με ανασταλτικό παράγοντα λευχαιμίας (LIF). Ο LIF πιθανολογείται ότι έχει ανοσορρυθμιστικό ρόλο, με αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα που οδηγούν στην ωρίμανση των ρυθμιστικών κυττάρων T και στην αναστολή της μεσολαβούμενης από ιντερλευκίνη-6 παραγωγής του Th17. Αυτού του είδους η νανομορφή μπορεί δυνητικά να έχει ουσιαστική εφαρμογή για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της σκλήρυνσης κατά πλάκας (Park J. G., 2011). Οι διαγνωστικές μέθοδοι για τη νόσο αυτή περιλαμβάνουν την χρήση γλυκονοανωσωματιδίων που σχηματίζονται από νανοδομές οξειδίου του σιδήρου, με σταυροειδείς δεσμούς, τροποποιημένων με sialil-Lewis X, ένα εξειδικευμένο προσδέτη για τον ενδοθηλιακό παράγοντα σελεκτίνη. Η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού έδειξε αυξημένη συσσώρευση αυτών των στοχευμένων νανοσωματιδίων σε πειραματικό μοντέλο ποντικού με αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδας (Van Kasteren, 2009). Όλα τα παραπάνω συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

Νανοσωματίδιο	Τροποποίηση επιφανείας	Μηχανισμός Στόχευσης	Εφαρμογή
PLA-TPGS	Transferrin	Ενδοκυττάρωση μέσω υποδοχέα	Αυξημένη πρόσληψη από τον εγκέφαλο
PLGA	Transferrin	Ενδοκυττάρωση μέσω υποδοχέα	Αυξημένη πρόσληψη από τον εγκέφαλο στη νόσο AD και PD
PAMAM	Lactoferrin	Ενδοκυττάρωση μέσω υποδοχέα	Γονιδιακή παράδοση
Chitosan	Anti-amyloid antibody, IgG4.1	Επιλεκτική δέσμευση με β-αμυλοειδές	Θεραπευτική για τη νόσο AD
PLGA	Trimethylated chitosan	Απορρόφηση με	Πρόσληψη

		μεσολάβηση διακυττάρρωσης	νευροπροστατευτικού φαρμάκου για τη νόσο AD
Gold	Anti-tau monoclonal antibody	Επιλεκτική δέσμευση με tau πρωτεΐνες	Διαγνωστική για τη νόσο AD
PAMAM	Angiopep-2	Ενδοκυττάρωση μέσω LRP	Αυξημένη παράδοση DNA στο γλοίωμα
PAMAM	Chlorotoxin	Δέσμευση με την μήτρα μεταλλοπρωτεϊνάσης-2 ενδοπεπτιδάσης	Αυξημένη πρόσληψη DNA στο γλοίωμα
PEG-PCL	Angiopep-2 and EGFP-EGF1	Ενδοκυττάρωση μέσω LRP	Αυξημένη πρόσληψη από τον εγκέφαλο και επιλεκτική από το γλοίωμα
PBCA	Polysorbate-80	Ενδοκυττάρωση μέσω LRP	Βελτιωμένη παράδοση τεμολοζομίδης στον εγκέφαλο
PEG-PLGA	DNA aptamer (AS1411)	Δέσμευση με νουκλεονίνη	Επιλεκτική χορήγηση πακλιταξέλης σε γλοίωμα
Gadolinium metallofullerenes	IL-13 peptides	Δέσμευση με υποδοχέα IL-13	Επιλεκτική θεραπεία γλοιώματος
PEG-PLGA	Pep TGN	-	Επιλεκτική εγκεφαλική διείσδυση
PLGA	Leukemia inhibitory factor	Ανοσορρυθμιστική δράση	Ενισχυμένη δραστηριότητα έναντι φλεγμονής σε σκλήρυνση κατά πλάκας
Iron Oxide	Sialyl Lewis X	Δεσμεύεται στις σελεκτίνες που εκφράζονται σε φλεγμονή	Διαγνωστικά στη σκλήρυνση κατά πλάκας

Πίνακας 4: Νανοφαρμακευτική στόχευση για την αντιμετώπιση των παθήσεων του ΚΝΣ

Συντημήςεις: AD, ασθένεια Alzheimer; IL, ιντερλευκίνη. LRP, πρωτεΐνη σχετιζόμενη με υποδοχέα λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας, PAMAM, πολυαμιδοαμίνη. PBCA, κυανοακρυλικός πολυβουτυλεστέρας, PD, ασθένεια Parkinson; PEG-PCL, πολυαιθυλενογλυκόλη-πολυκαπρολακτόνη, PEG-PLGA, πολυαιθυλενογλυκόλη-πολυ (λακτίδιο-συν-γλυκολίδιο); PLA-TPGS, πολυ (λακτίδιο) -D-α-τοκοφερυλ πολυαιθυλενογλυκόλη.

Πηγή: Neurological disorders and therapeutics targeted to surmount the blood–brain barrier, (2012)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΝΑΝΟΦΑΡΜΑΚΩΝ

Γενικά

Ανακεφαλαιώνοντας τα δεδομένα του προηγούμενου κεφαλαίου, θα μπορούσαμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα ότι τα διάφορα Νανοφάρμακα που έχουν ανακαλυφθεί μέχρι σήμερα είναι μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση, με εφαρμογή στις ανίατες ασθένειες που ευθύνονται για τον θάνατο χιλιάδων ανθρώπων ετησίως, σε όλον τον κόσμο. Η επιτυχία τους οφείλεται κατά κύριο λόγο στην εξειδίκευση που παρουσιάζουν, καθώς και στο γεγονός ότι λειτουργούν αποτρεπτικά για την εμφάνιση παρενεργειών, σε σχέση με τις συμβατικές θεραπείες. Ωστόσο, η χρήση τους δεν είναι εντελώς απαλλαγμένη από δυσάρεστες για τον οργανισμό συνέπειες, ούτε έχει επιφέρει την επιθυμητή αποτελεσματικότητα έως σήμερα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι η περαιτέρω ανάπτυξη αποδοτικότερων και ασφαλέστερων κλινικά θεραπευτικών σκευασμάτων είναι επιβεβλημένη.

Όμως, η βελτιστοποίηση των σύγχρονων φαρμακομορφών απαιτεί λεπτομερέστερες γνώσεις, για την επίλυση διαφόρων σχετικών θεμάτων, καθώς και πληρέστερη έρευνα για τις περαιτέρω εξελίξεις τους. Λαμβάνοντας μάλιστα υπόψη το γεγονός ότι στη φαρμακευτική έρευνα τα σημαντικά βιοφαρμακευτικά χαρακτηριστικά των υποψηφίων φαρμάκων είναι η διαλυτότητά, η διαπερατότητα μεμβράνης, η μεταβολική σταθερότητα και η συστηματική φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική τους, τότε είναι εύκολο να αντιληφθεί κανείς πως η τελειοποίηση αυτών των παραμέτρων θα έχει σημαντικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη και χορήγηση των νέων φαρμακευτικών προϊόντων. Με τη χρήση νανοσωματιδίων και την πλήρη εκμετάλλευση των ιδιοτήτων τους, η οποία ασφαλώς προϋποθέτει την απόλυτη κατανόηση των νόμων της φυσικής που τα διέπει, θα μπορούσαν να επιλυθούν τα βιοφαρμακευτικά προβλήματα που σχετίζονται με τον ασαφή έλεγχο της απελευθέρωσης του φαρμάκου, την ανεπαρκή σταθερότητα, τη περιορισμένη φαρμακοκινητική συμπεριφορά και την τοξικότητα του δραστικού συστατικού. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι τα τελευταία χρόνια, περίπου το 70% των νέων υποψηφίων φαρμάκων έχει δείξει ανεπαρκή υδατοδιαλυτότητα, ενώ περίπου το 40% των

φαρμάκων που διατίθενται ήδη στο εμπόριο για χρήση από του στόματος χαρακτηρίζονται ως πρακτικά αδιάλυτα σε υδατικά μέσα ($<100 \mu\text{g/mL}$). Η προσέγγισή τους όμως με νανοσωματίδια έχει αποδειχθεί αποτελεσματική, τουλάχιστον αναφορικά με τη βελτίωση της συμπεριφοράς των θεραπευτικών ουσιών περιορισμένης διαλυτότητας (φάρμακα κατηγορίας II/IV BCS), ενώ οι τρέχουσες εφαρμογές της νανοτεχνολογίας, σε συνδυασμό με την συνεχιζόμενη έρευνα, εκτιμάται ότι θα επιφέρουν κλινικώς χρήσιμα νανοσωματιδιακά συστήματα, με βελτιωμένα φαρμακοκινητικά προφίλ.

Ως εκ τούτου, το ενδιαφέρον για τα σωματίδια της νανοκλίμακας έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες, με αποτέλεσμα να έχουν αναπτυχθεί με επιτυχία αρκετά νανουβριδικά σκευάσματα με μειωμένη τοξικότητα φαρμάκου ή/και ενισχυμένη αποτελεσματικότητα. Αντίθετα, οι νανοφορείς που προορίζονται για στοχευμένη παράδοση βρίσκονται ακόμη σε εξέλιξη. Η κατάλληλη επιλογή και η περαιτέρω ανάπτυξη ειδικών προσδετών στόχευσης υψηλής εξειδίκευσης, όπως είναι τα αντισώματα, τα πεπτίδια ή τα απταμερή, μπορεί να επιταχύνει τις διαδικασίες ανάπτυξης της επόμενης γενιάς νανοφαρμάκων με υψηλό θεραπευτικό δυναμικό. Η συντριπτική πλειονότητα των κλινικών μελετών αφορά στις περιπτώσεις ασθενών με καρκίνο (~ 72%) και οι άλλες βιοϊατρικές εφαρμογές σε μολυσματικές ασθένειες (~ 6%), σε διαδικασίες απεικόνισης (~ 2%) και οδοντιατρικά συνθετικά υλικά (~ 0.2%).

Επί του παρόντος, τα νανοφαρμακευτικά συστήματα πιστεύεται ότι υπόσχονται τη θεραπεία του καρκίνου, δεδομένου ότι επιτρέπουν την αυστηρή στόχευση στα σημεία ενδιαφέροντος, αυξάνουν τη συγκέντρωση του φαρμάκου στην παθολογική περιοχή και, παράλληλα μειώνουν τις συστηματικές παρενέργειες. Ωστόσο, εκτός από τον καρκίνο, υπάρχει πλήθος σοβαρών ασθενειών (π.χ. διαβήτης, ΧΑΠ, άνοια κ.λπ.) που πρέπει να αντιμετωπιστούν, οι οποίες μόνο με τη βοήθεια της νανοτεχνολογίας, μετά την περαιτέρω ωρίμανση της τεχνολογικής πλατφόρμας, μπορούν να τελεσφορήσουν. Και ενώ μπορεί να απέχουμε αρκετά ακόμη από τον τελικό στόχο προσέγγισης των νανοφαρμακευτικών υπηρεσιών, παρόλα αυτά, η εις βάθος κατανόηση των μηχανισμών λειτουργίας τους, καθώς και η εύρεση μηχανισμών αποτελεσματικότερης αξιοποίησης των δυνατοτήτων τους, θα μπορέσει να προσφέρει ένα λαμπρό μέλλον στην πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία μιας ευρείας παλέτας ασθενειών.

4.1 Προοπτική ναοφαρμάκων κατά του καρκίνου

Σχετικά με την καταπολέμηση του καρκίνου, είδαμε πως η πολυπαραγοντική αιτιολογία της νόσου, καθώς και η αδυναμία κατανόησης των μηχανισμών επιβίωσης των παθολογικών κυττάρων που ευθύνονται για τον αφύσικο-ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, έχει ως αποτέλεσμα την κατάταξη της νόσου ανάμεσα στα σοβαρότερα προβλήματα υγείας που παρατηρούνται σήμερα στις αναπτυγμένες χώρες και στη δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου μετά τις καρδιοπάθειες. Δεν είναι τυχαίο λοιπόν το γεγονός ότι, εδώ και μερικές δεκαετίες, το ενδιαφέρον των ερευνητών είναι στραμμένο στις μεθόδους θεραπείας με χρήση ναοσωματιδίων, τα οποία επιχειρούν να βελτιώσουν τις τρέχουσες πρακτικές ανίχνευσης καρκινικών κυττάρων, να αντιμετωπίσουν τα προβλήματα απεικόνισης και να τελεσφορήσουν στην θεραπεία όγκων, μειώνοντας παράλληλα την τοξικότητα των παραδοσιακών αντικαρκινικών θεραπειών. Επίσης, στόχος των επιστημόνων είναι η εξατομικευμένη θεραπεία, προσαρμοσμένη απόλυτα στο γενετικό υλικό του καρκινικού όγκου του κάθε ασθενούς, παράλληλα με τη χρήση της ανοσογκολογίας και της γονιδιακής θεραπείας.

Μια πρόσφατη προσπάθεια προσέγγισης της νόσου αφορά στην έρευνα των καρκινικών βλαστοκυττάρων (Cancer Stem Cells, CSCs), τα οποία παρουσιάζουν διακριτές δυνατότητες αυτοανανέωσης, πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης, και έτσι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες πτυχές του καρκίνου. Τα CSCs, όπως έχει αποδειχθεί, έχουν ενεργή συμμετοχή στην εξέλιξη των όγκων, καθορίζουν την αντοχή τους στις θεραπευτικές ουσίες και συμμετέχουν στις διαδικασίες μετάστασης, σε διαφορετικούς τύπους κακοηθειών. Λόγω αυτής τους της επίδρασης, οι περισσότεροι ερευνητές έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών κατά των CSCs και έχουν καταβάλει τεράστιες προσπάθειες για τη διερεύνηση μεθόδων επιλεκτικής εξάλειψης αυτών των θεραπευτικά ανθεκτικών καρκινικών κυττάρων. Πολλές αναφορές καταδεικνύουν τη χρήση ειδικών προσεγγίσεων, όπως είναι για παράδειγμα οι μεταφορείς δέσμευσης ATP (ABC), η μέθοδος αποκλεισμού της αυτοανανέωσης και της επιβίωσης των CSCs, και η εξάλειψη του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Επίσης, διάφοροι θεραπευτικοί παράγοντες όπως μικρομοριακά φάρμακα, νουκλεϊκά οξέα και αντισώματα λέγεται ότι καταστρέφουν επιλεκτικά τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (Singh V. K., 2017). Υπό προϋποθέσεις λοιπόν, η χρήση ναοφαρμάκων με αντι-CSCs ιδιότητες θα μπορούσε να αποτελέσει ένα από τα σημαντικότερα όπλα στην φαρέτρα των ογκολόγων, εφόσον η στοχευμένη παράδοση έχει το κλειδί για την, εν γένει, επιτυχία των περισσότερων

φαρμακευτικών θεραπειών, για την αντιμετώπιση του καρκίνου. Η μεγαλύτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στον ορθολογικό σχεδιασμό νανοφορέων, που θα είναι σε θέση να παρέχουν αντι-CSC παράγοντες εκλεκτικά στα σημεία-στόχους, ταυτόχρονα με την βελτιστοποίηση του χρόνου συγκράτησης και κυκλοφορίας, και την επαρκή ενδοκυτταρική απορρόφηση, που ενδεχομένως θα επιτρέψει την ολοκληρωτική εξάλειψη των όγκων. Ο σχεδιασμός των «έξυπνων» αυτών φαρμάκων απαιτεί την ανάπτυξη ευπροσάρμοστων συστημάτων απελευθέρωσης, όπως για παράδειγμα νανοσωματιδίων που θα έχουν την ικανότητα να ανταποκρίνονται στα ερεθίσματα του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Ένα καλό παράδειγμα θα μπορούσε να είναι η τροποποίηση των νανοσωματιδίων με την μέθοδο PEGylation (ή άλλων υδρόφιλων τροποποιήσεων), δηλαδή της προθήκης πολυαιθυλενογλυκόλης στην επιφάνειά τους, η οποία ενισχύει την σταθερότητα, μειώνει τις μη ειδικές πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις και παρατείνει την κάθαρση μέσω ανοσοκυττάρων (Khop, 2010).

Δυστυχώς όμως, η PEGylation έχει αποδειχθεί ότι εμποδίζει την κυτταρική πρόσληψη νανοσωματιδίων και ότι προκαλεί περιορισμένη ενδοκυτταρική διακίνηση, με αποτέλεσμα να περιορίζονται σημαντικά οι αντι-CSCs ικανότητές τους (Mishra, 2004). Ωστόσο, καταβάλλονται προσπάθειες για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, όπως για παράδειγμα αποσυνδέοντας τα μόρια PEG από τα νανοσωματίδια αμέσως μετά την κυτταρική τους πρόσληψη, χρησιμοποιώντας συγκεκριμένα ερεθίσματα από το μικροπεριβάλλον των κυττάρων, εντός του όγκου. Τέτοια ερεθίσματα μπορεί να είναι οι μεταβολές του pH ή η αλλοιωμένη έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών της μήτρας (Hanahan, Hallmarks of cancer: the next generation, 2011; Huang S. S., 2013; Mura, 2013).

Άλλο χαρακτηριστικό που επιδέχεται βελτίωσης είναι η ικανότητα διείσδυσης των αντι-CSC νανοφαρμάκων στον βαθύτερο εσωτερικό πληθυσμό των όγκων, με σκοπό να ενισχύσει τη διαστηριότητά τους κατά των καρκινικών βλαστοκυττάρων. Πιο αναλυτικά, υπάρχουν δύο ανατομικά διακριτές περιοχές στο μικροπεριβάλλον του όγκου: η εξωτερική περιαγγειακή περιοχή και η εσωτερική υποξική, η οποία είναι πιο πλούσια σε CSCs (Li Z. B., 2009; Charles, 2010; Mohyeldin, 2010). Η προσβασιμότητα των θεραπευτικών παραγόντων στα καρκινικά βλαστοκύτταρα που είναι εγκατεστημένα στην περιφέρεια είναι εύκολος στόχος λόγω της πλήρους ανεπτυγμένης αγγείωσης στην περιοχή αυτή. Αντίθετα, οι εσωτερικές περιοχές παραμένουν ανεπαρκώς αγγειοποιημένες και χαρακτηρίζονται από υποξικό περιβάλλον, λόγω της ανώριμης αγγείωσης και της τεράστιας διάμεσης μήτρας, που προκαλεί μειωμένη διείσδυση

των θεραπευτικών παραγόντων και συγκριτικά υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης των CSCs (Mohyeldin, 2010). Το σκεπτικό λοιπόν για τη βελτίωση της ικανότητας διείσδυσης των νανοφορέων που μεταφέρουν αντι-CSCs παράγοντες θα μπορούσε να είναι μια καλή προσέγγιση.

Μια εναλλακτική μέθοδος εξάλειψης καρκινικών όγκων, με υψηλές προσδοκίες για το μέλλον, είναι η συνδυαστική θεραπεία που περιλαμβάνει αρχικά την έγχυση νανοσωματιδίων στον όγκο, τα οποία έχουν ενθυλακώσει προηγουμένως διάφορους θεραπευτικούς παράγοντες, και στη συνέχεια την υπερθέρμανσή τους με εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, ακτίνων X ή λέιζερ, που οδηγεί στην εντοπισμένη καταστροφή των καρκινικών κυττάρων (Nanomedicine in Cancer, n.d.). Ειδικά για την καλούμενη θεραπεία μαγνητικής υπερθερμίας (Magnetic Hyperthermia Treatment, MHT) η πρόβλεψη για μελλοντική εφαρμογή στη αντιμετώπιση του καρκίνου είναι τουλάχιστον ελπιδοφόρα. Πρόκειται για μια πρακτική που αξιοποιεί την θερμότητα που προκαλείται, κατόπιν χρήσεως μαγνητικών νανοσωματιδίων (Magnetic Nanoparticles, MNPs), σε απόκριση ενός εξωτερικά εφαρμοζόμενου, εναλλασσόμενου μαγνητικού πεδίου, το οποίο προκαλεί ισχυρό σοκ στα καρκινικά κύτταρα ή τα οδηγεί σε ταχεία απόπτωση. Τα MNPs μπορούν να στοχεύουν ειδικά στη θέση του όγκου, προκαλώντας ομοιογενή θέρμανση, σε αντίθεση μάλιστα με την κλασική θεραπεία υπερθερμίας (Hyperthermia Therapy, HT), κατά την εφαρμογή της οποίας δεν είναι εφικτή η ισοκατανομή της θερμότητας από την επιφάνεια του όγκου έως τον πυρήνα του (Shetake, 2016).

Συγκεκριμένα, η HT πάσχει από δύο σημαντικά μειονεκτήματα: (α) αδυναμία πρόσβασης στους εν τω βάθει όγκους και (β) μη ομοιόμορφη θέρμανση του όγκου, λόγω μειούμενης κλιμάκωσης της έντασης της θερμότητας από την επιφάνεια προς το κέντρο του. Αυτοί οι περιορισμοί προκαλούν ανεπαρκή θανάτωση των καρκινικών κυττάρων και σοβαρές παρενέργειες στους ασθενείς, όπως για παράδειγμα δερματικά εγκαύματα, έντονο πόνο και δυσφορία (Habash, 2006). Όμως, με την εφαρμογή της MHT τα προβλήματα αυτά μειώνονται σημαντικά, αφού τα MNPs είναι ικανά για ομοιόμορφη και εντοπισμένη στόχευση των όγκων, ελαχιστοποιώντας την πιθανότητα ανάπτυξης θερμοκρασιακών διαβαθμίσεων και επιτρέποντας, με τον τρόπο αυτό, τον καλύτερο έλεγχό τους. Αν και η MHT από μόνη της είναι αρκετά αποτελεσματική, εν τούτοις, η συνδυαστική της προσέγγιση με διάφορες άλλες τεχνικές, όπως με χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία, μπορεί δυνητικά να οδηγήσει σε αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση του καρκίνου.

Η εφαρμογή της MHT μπορεί να ενισχύσει πολλές πτυχές της αντικαρκινικής θεραπείας, ειδικά όταν συνδυαστεί με κατάλληλες δόσεις ακτινοβολίας για ελαχιστοποίηση των παρενεργειών, συμπεριλαμβανομένης της συστηματικής τοξικότητας. Επιπλέον, ο συνδυασμός μαγνητικών NPs, κυρίως νανοσωματιδίων οξειδίου του σιδήρου (IONPs) και αντικαρκινικών φαρμάκων με βάση τα λιποσώματα, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νανοσυστημάτων που θα χρησιμεύουν ταυτόχρονα για τη διάγνωση και τη θεραπεία του καρκίνου. Βασική όμως προϋπόθεση για να αποτελέσει η MHT μια πραγματικά χρηστική, συνδυαστική θεραπευτική αγωγή, είναι απαραίτητο να βελτιστοποιηθεί μελλοντικά ο σχεδιασμός των μαγνητικών νανοσωματιδίων, προκειμένου να διευκολυνθεί η ομοιόμορφη κατανομή τους εντός των όγκων, καθώς και η πρόσληψη και συγκράτησή τους στο εσωτερικό των καρκινικών κυττάρων (Shetake, 2016).

Υπάρχουν πολλές ακόμη προκλήσεις στον τομέα της αντικαρκινικής θεραπείας με τη χρήση νανοσωματιδιακών συστημάτων, αλλά εξακολουθούν να υπάρχουν και αμφισβητήσεις σχετικά με τον πιθανό κίνδυνο από τη χορήγησή τους. Τα πιο πιεστικά προβλήματα είναι οι χρόνιες ή οξείες τοξικές επιδράσεις, γεγονός που αναμφισβήτητα δεν μπορεί να αγνοηθεί. Τα νανοσωματίδια μπορούν να συνδεθούν στην επιφάνεια των βιολογικών μεμβρανών με προσρόφηση ή μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα κύτταρα, με την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, οδηγώντας σε μετουσίωση πρωτεϊνών, υπεροξειδωση λιπιδίων, βλάβη στο DNA και τελικά κυτταρικό θάνατο. Παρόλο που πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η λειτουργικοποίηση των NPs μπορεί να βελτιώσει τη διαλυτότητά τους στο νερό, η απόδειξη της βιοσυμβατότητας και της ασφάλειας είναι επί του παρόντος ανεπαρκής.

Είναι λοιπόν απαραίτητο να διεξαχθούν λεπτομερείς μελέτες τοξικότητας, προκειμένου να εξασφαλιστεί η χωρίς παρενέργειες δράση των νανοφαρμάκων, πριν από περαιτέρω εφαρμογές στον άνθρωπο. Επιπλέον, επειδή λίγοι μόνο τύποι νανοσυστημάτων έχουν εγκριθεί από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων και πολύ λιγότεροι έχουν εγκριθεί ως αντικαρκινικοί παράγοντες για να εισέλθουν σε κλινικές δοκιμές Φάσης III, είναι αναγκαίο να κατανοηθούν εις βάθος οι ιδιότητές τους, πριν από την πιθανή εφαρμογή στη θεραπεία όγκων (Huang Y. F., 2017).

Τέλος, είναι απαραίτητο να ληφθεί υπόψη ότι η ανάπτυξη θεραπειών κατά των όγκων είναι ένα διεπιστημονικό πεδίο, το οποίο απαιτεί πιο εμπεριστατωμένη έρευνα στη βιολογία του

όγκου, την ανοσολογία, την μοριακή βιολογία και τη νανοτεχνολογία. Η αποκλειστική χορήγηση νανοσκευασμάτων στη συνήθη κλινική πρακτική θα απαιτήσει μια πολυεπιστημονική προσέγγιση που θα καθοδηγείται από διάφορες κλινικές, δεοντολογικές και κοινωνικές αντιλήψεις. Εξαιτίας όμως των σημαντικών αποτελεσμάτων που αναμένονται από την τρέχουσα έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο, μπορεί να θεωρηθεί δεδομένο ότι ο άνθρωπος θα επωφεληθεί σε μεγάλο βαθμό από τη νανοτεχνολογία και τα νανοφάρμακα στο εγγύς μέλλον, ιδιαίτερα στη θεραπεία όγκων.

4.2 Προοπτική νανοφαρμάκων κατά των καρδιαγγειακών παθήσεων

Η ταχεία εξέλιξη του επιστημονικού τομέα της γενετικής, της μοριακής και κυτταρικής βιολογίας, της επιστήμης των υλικών και της βιοϊατρικής, καθιστούν τη νανοτεχνολογία, που τυγχάνει να γεφυρώνει το χάσμα μεταξύ μικροσκοπικών και μακροσκοπικών αλληλεπιδράσεων, έναν από τους σημαντικότερους συμμάχους της προόδου στους τομείς της θεραπείας και της διάγνωσης των ασθενειών. Παρόλο που εξακολουθεί να βρίσκεται σε πολύ πρώιμο αναπτυξιακό στάδιο, η καρδιαγγειακή νανοϊατρική μπορεί να ικανοποιήσει την υψηλή ζήτηση για καινοτομία στη διάγνωση και θεραπεία της καρδιαγγειακής νόσου, εκμεταλλευόμενη τις νανοτεχνολογικές λύσεις που έχουν αναπτυχθεί για άλλες ιατρικές εφαρμογές. Αντίθετα από τα συμβατικά μοριακά θεραπευτικά σκευάσματα, τα νανοφάρμακα επιτρέπουν τον σχεδιασμό πολυδιάστατων και πολυτροπικών παραγόντων που μπορούν να ανιχνεύσουν και να εντοπίσουν ταυτόχρονα και με ακρίβεια την ασθένεια.

Όπως σε κάθε σοβαρή πάθηση, της οποίας η ίαση έχει σχέση εξάρτησης με τον χρόνο, σημαντικό ρόλο παίζει η έγκαιρη και έγκυρη διάγνωση. Ειδικά στις καρδιαγγειακές παθήσεις, συμπεριλαμβανομένων των εγκεφαλικών επεισοδίων, είναι μεγάλης αξίας η δυνατότητα αξιολόγησης των πρόδρομων σημάτων εκδήλωσης της νόσου, ειδικά στα άτομα που ανήκουν στις ομάδες υψηλού κινδύνου. Έτσι, παράλληλα με την ανάπτυξη και υιοθέτηση νέων στρατηγικών για τη θεραπεία και την πρόληψη της καρδιαγγειακής νόσου, δαπανώνται προσπάθειες για την εφαρμογή νανομορφών ικανών να ανιχνεύουν *ex-vivo* και *in-vivo* σήματα CVD. Η ικανότητα παρακολούθησης για πρώιμες ενδείξεις CVD θα μπορούσε ενδεχομένως να μειώσει τον μεγάλο αριθμό θανάτων που σχετίζονται με τις ασθένειες αυτές. Για παράδειγμα, η παρακολούθηση θρομβωτικών ή αιμορραγικών επεισοδίων θα μπορούσε να διευκολύνει τη διάγνωση και τη θεραπεία του εγκεφαλικού επεισοδίου, καθώς και των εμβολών σε πολύ

πρώιμο στάδιο. Επιπλέον, η μέτρηση των μεταβολών της πίεσης του αίματος, της ροής και της συγκέντρωσης βιομορίων ή ιόντων μπορεί να δώσει πληροφορίες για την κατανόηση των καρδιαγγειακών συμβάντων (Godin, 2010).

Συγκεκριμένα, οι μελλοντικές εφαρμογές της νανοτεχνολογίας θα μπορούσαν να συμπεριλαμβάνουν τη δημιουργία «έξυπνων» νανοαισθητήρων, ενσωματωμένων σε υπάρχοντα εμφυτεύματα, όπως για παράδειγμα σε απινιδωτές, ενδοπροθέσεις ή βηματοδότες, οι οποίοι θα έχουν την ικανότητα να προειδοποιούν άμεσα για κάποια δυσλειτουργία της καρδιάς και θα οδηγούν σε οξεία απελευθέρωση φαρμάκου. Μια άλλη νανοφαρμακευτική λύση για τα CVD, που θα ήταν πολύ χρήσιμο να δρομολογηθεί άμεσα, είναι αυτή που αφορά στην έγκαιρη ανίχνευση της ευάλωτης για ρήξη ενδοθηλιακής πλάκας. Στην περίπτωση που κάτι τέτοιο ήταν δυνατόν, θα ήταν εύκολο να εφαρμοστούν στρατηγικές "κλικ-χημείας" ή υψηλά ελεγχόμενων διασταυρούμενων συνδέσεων, οι οποίες μπορούν να "ασφαλίσουν" την ευάλωτη αθηρωματική πλάκα, πριν από το επακόλουθο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (Acute Myocardial Infarction, AMI), και χωρίς κίνδυνο επανεμφράξέως του (Godin, 2010).

Επίσης, η ταχεία ενδοθηλιακή αναγέννηση μετά από τοποθέτηση stent διευκολύνεται από βιομιμητικά νανοϊνώδη ικρίωματα. Τα υλικά του μοσχεύματος που κατασκευάζονται από ιστό για την επέμβαση της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης (Coronary Artery Bypass Graft, CABS) θα μπορούσαν να αναπτυχθούν με τη χρήση νανο-κλώσης (nano-spinning) και νανο-αντιγραφής (nano-patterning) (Ambesh, 2017).

Τέλος, η εφαρμογή νανοσυστημάτων για μεταφορά θεραπευτικών παραγόντων (nano-Drug Delivery System, nano-DDS) στη στεφανιαία νόσο είναι μια εφικτή στρατηγική, εφόσον προηγηθεί ενσωμάτωση νανοφαρμάκων στο σύστημα μονοπύρηνων φαγοκυττάρων (Mononuclear Phagocyte System, MPS) και ενισχυθεί η διαπερατότητα των φλεγμονωδών αγγείων. Εκτός από τις θεραπευτικές επιδράσεις των νανο-DDS στη στεφανιαία νόσο όμως, υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία δυνατοτήτων που προκύπτει από το συνδυασμό νάνο-DDS με διάφορους θεραπευτικούς παραγόντες, συμπεριλαμβανομένων των χημικών ενώσεων, των νουκλεοτιδίων, των πεπτιδίων, κ.λ.π. (Katsuki, 2017) Με τον τρόπο αυτό, η τρέχουσα φαρμακοθεραπεία μπορεί να βρει εφαρμογή σε πολλές καρδιαγγειακές παθήσεις και να προσαρμόσει το προφίλ της στις ιδιαιτερότητες του εκάστοτε μηχανισμού παθολογίας.

Όσον αφορά στα थेρανοστικά μέσα, δηλαδή στα νανোসωματίδια που είναι ταυτόχρονα φορείς διαγνωστικών και θεραπευτικών παραγόντων (theranostic NPs), η προοπτική ανάπτυξης

τους για εφαρμογή στα CVDs, θα αποτελούσε ένα πραγματικά τεράστιο επιστημονικό βήμα. Ο σκοπός αυτής της στρατηγικής είναι η ανίχνευση και η παράλληλη θεραπευτική παρέμβαση για επιδιόρθωση των αθηρωματικών αλλοιώσεων, που επιτυγχάνεται με παρακολούθηση της βιοκατανομής των NPs στον πάσχοντα οργανισμό, συναρτήσει του χρόνου. Πιο αναλυτικά, τα συστήματα αυτά εστιάζουν στην εποπτεία του μηχανισμού δράσης των θεραπευτικών νανοσωματιδίων, από την στιγμή εισόδου τους στον οργανισμό, τη διείσδυσή τους μέσω του ενδοθηλίου και τις αλληλεπιδράσεις τους με τα κύτταρα-στόχους, με την πάροδο του χρόνου. Κατά συνέπεια, σημαντική πρόκληση σε αυτήν την περίπτωση είναι να επιτευχθεί ένας αποτελεσματικός αρτηριακός μηχανισμός εντοπισμού των NPs, καθώς και να καθοριστεί επακριβώς η βέλτιστη απαιτούμενη δόση για ταυτόχρονη απεικόνιση και θεραπεία, ικανοποιώντας πάντα την ανάγκη για περιορισμένη νανοτοξικότητα, η οποία και θα εξασφαλίσει την κλινική τους εφαρμογή (Nanomedicine targeting atherosclerosis , n.d.).

4.3 Προοπτική νανοφαρμάκων κατά των παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι στρατηγικές που απαιτούνται για τη θεραπευτική αγωγή των νευρολογικών διαταραχών είναι μάλλον πολύπλοκες, τόσο αναφορικά με τη δυσκολία εισδοχής των δραστικών ουσιών στον εγκέφαλο, όσο και σε ό,τι αφορά στην σταθερότητα που παρουσιάζει το φάρμακο αμέσως μετά τη προσπέλαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Ως εκ τούτου, η εφαρμογή των αρχών της νευροπροστασίας ή/και της νευρογένεσης, σε συνδυασμό με τα επιτεύγματα της νανοτεχνολογίας, θα ήταν η πιο αξιόπιστη τεχνική για την επίλυση ορισμένων από τις πλέον δυσκολότερες προκλήσεις που αφορούν στην ίαση των παθήσεων του ΚΝΣ. Για παράδειγμα η χρήση πολυμερικών νανοσωματιδίων χρυσού στη σύνθεση νανοφαρμάκων, αν και έχουν πολύ λίγες κλινικές δοκιμές έως σήμερα, ωστόσο, θα μπορούσαν, λόγω της φυσικής και μηχανικής αντοχής τους, να αποτελέσουν ένα πολύτιμο εργαλείο για την αποδοτική μεταφορά φαρμάκων στον εγκέφαλο (Kanwar, 2012).

Η νανοτεχνολογία αναδεικνύεται σε μια ελπιδοφόρα επιστήμη και για ακόμη έναν άλλο λόγο: επειδή μέσω των επιτευγμάτων της, γίνεται ευκολότερη η παράδοση και η στοχευμένη αποδέσμευση θεραπευτικών ουσιών στον εγκέφαλο. Παρόλα αυτά, δεν έχουν υπάρξει επί του παρόντος πολυδιάστατα φάρμακα που να μπορούν να προκύψουν από μεμονωμένες βιοχημικές οδούς και να έχουν εφαρμογή σε διάφορες διαταραχές του ΚΝΣ. Ως εκ τούτου, είναι αναγκαία η απόκτηση περισσότερων γνώσεων σχετικά με τις ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα

των νανοσωματιδίων, ώστε να μπορέσουμε στο άμεσο μέλλον να αξιοποιήσουμε τη δυναμική τους συμπεριφορά στην βιοϊατρική επιστήμη (Kanwar, 2012).

Συμβαίνει επίσης, κάποιες φορές, ασθένειες όπως ο διαβήτης ή οι ψυχωσικές διαταραχές να σχετίζονται με τις νευρολογικές παθήσεις. Η νανοϊατρική θα μπορούσε να αναπτύξει μηχανισμούς με τους οποίους θα ήταν δυνατός ο περιορισμός ή η απαλοιφή των συνολικών παραγόντων συννοσηρότητας, χωρίς καμία αρνητική επίπτωση ή με ελάχιστες παρενέργειες για τον οργανισμό. Εκτός από αυτό, ο γενετικός χειρισμός των νευρωνικών κυττάρων, που είναι εν γένει ένας δύσκολος στόχος, θα μπορούσε με τη χορήγηση νανοφαρμάκων να ελεγχθεί αποτελεσματικά και να οδηγήσει στην θεραπεία πολλών από τις ασθένειες του ΚΝΣ. Ακόμη και σε αυτήν την περίπτωση όμως, τα φάρμακα τα οποία βασίζονται στη χρήση νανοσωματιδίων, αν και παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα, η χρήση τους εξακολουθεί να προκαλεί ανησυχία. Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχει μέθοδος για τον προσδιορισμό του επιπέδου τοξικότητάς τους, ούτε στοιχεία για το ακριβές ποσοστό επιτυχούς παράδοσης ουσιών στις θέσεις-στόχους του ΚΝΣ (Dikpati, 2012). Οι ανεξερεύνητες αυτές πτυχές των νανοφαρμάκων, όχι μόνο εκείνων που εφαρμόζονται στις νευρολογικές παθήσεις, αλλά όλων γενικά των σκευασμάτων που βασίζονται στη νανοτεχνολογία, πρέπει να ερευνηθούν περαιτέρω, ώστε η χρήση τους να είναι και ασφαλής και προσανατολισμένη στο στόχο της.

Συμπερασματικά, θα λέγαμε ότι οι διαταραχές του ΚΝΣ είναι δύσκολο να αντιμετωπιστούν φαρμακολογικά λόγω της προστασίας του εγκεφάλου από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Λόγω των εμποδίων που παρουσιάζονται κατά την προσπάθεια παροχής φαρμάκων στα κύτταρα και τους ιστούς του εγκεφάλου, η οικοδόμηση συστημάτων χορήγησης νανοθεραπευτικών σκευασμάτων με στόχο τον εγκέφαλο είναι η πιο ευοίωνη στρατηγική αντιμετώπισης αυτής της φυσικής άμυνας. Προκειμένου όμως να επιτευχθεί αυτός ο σκοπός, πρέπει μελλοντικά να ικανοποιηθούν κάποια από τα βασικότερα αιτήματα, όπως είναι για παράδειγμα η απαίτηση για εξασφάλιση βιοαποικοδομήσιμης σύνθεσης των υλικών που απαρτίζουν τα νανοφάρμακα, προκειμένου τα παρεχόμενα εγκεφαλικά συστήματα απελευθέρωσης θεραπευτικής ουσίας να χορηγούνται με βιολογική ασφάλεια, και χωρίς τοξικές παρενέργειες. Επιπλέον, θα πρέπει να αναπτυχθεί μια ενιαία μέθοδος παρασκευής νανοσωματιδίων για χρήση σε βιολογικά συστήματα, έτσι ώστε τα νανοσωματίδια να καταστούν πιο ομοιογενή και προβλέψιμα. Ακόμη, είναι θεμελιώδους σημασίας να διασαφηνιστούν και να αξιολογηθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν την *in vivo* συμπεριφορά των NPs, με σκοπό να

δημιουργηθούν στο μέλλον αποτελεσματικά συστήματα χορήγησης φαρμάκων με στόχο τον εγκέφαλο. Τέλος, είναι απαραίτητο να γίνουν βελτιώσεις στα σκευάσματα που βρίσκονται σε κάποιο στάδιο κλινικής δοκιμής, οι οποίες να αφορούν στην αποτελεσματικότητα της στόχευσης, ούτως ώστε η χορήγησή τους να αποτελεί ουσιαστική θεραπευτική οδό για τους ασθενείς και όχι απλή παρηγορητική φροντίδα (Gao H. , 2016).

4.4 Νανοφάρμακα για μελλοντική αντιμετώπιση διαφόρων παθήσεων

Μελλοντικός στόχος των επιστημόνων είναι επίσης, η αντιμετώπιση των λιγότερο δημοφιλών αλλά εξίσου σοβαρών παθήσεων, κάνοντας χρήση των «έξυπνων» νανοφαρμάκων ή νανოსυστημάτων. Μεταξύ των ασθενειών που βρίσκονται στο στόχαστρο των ερευνητών είναι ο διαβήτης, οι παθήσεις των ματιών και οι μολυσματικές ασθένειες.

Σχετικά με τον διαβήτη, η χρήση της νανοτεχνολογίας μπορεί να έχει ευεργετική επίδραση στη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών που πάσχουν από αυτόν. Επί του παρόντος, η έρευνα στρέφεται στην μέθοδο χορήγησης της ινσουλίνης με τρόπο ανώδυνο και μη επεμβατικό και, συγκεκριμένα, υπό τη μορφή εισπνεόμενων νανোসωματιδίων ή ως κάψουλα που θα ακολουθεί την γαστρεντερική οδό για να εισέλθει στον οργανισμό (Nanomedicine to fight Diabetes , n.d.). Ακόμη, γίνονται δοκιμές για τη δημιουργία αισθητήρων γλυκόζης και παρασκευασμάτων νανোসωματιδίων που θα παρέχουν ινσουλίνη. Η περαιτέρω ανάπτυξη νέων συστημάτων ανίχνευσης γλυκόζης, που θα μπορούν να λειτουργούν και ως μηχανισμοί αποδέσμευσης φαρμάκου, ανταποκρινόμενοι στα επίπεδα της στο αίμα, θα είναι ίσως το κλειδί για την απαλλαγή των ασθενών από την εξαρτημένη σχέση τους με την ενέσιμη ινσουλίνη. Σχετικά με αυτό, μεγάλη πρόκληση παραμένει η ελεγχόμενη αποδέσμευση ινσουλίνης με παρατεταμένους χρόνους καθυστέρησης για απόκριση σε αυξημένα επίπεδα γλυκόζης. Η επόμενη γενιά αισθητήρων θα πρέπει να είναι συνεπής και αξιόπιστη, ούτως ώστε οποιαδήποτε βλάβη ή υποβάθμιση του αισθητήρα να μην προκαλεί μεγάλη μετατόπιση των τιμών (Veisheh, 2015).

Τέλος, ένας πολύ σημαντικός τομέας στον οποίο η νανοτεχνολογία μπορεί να έχει ουσιαστική προσφορά είναι η κυτταροθεραπεία, αφού μπορεί να συμβάλλει στη μείωση της ανοσιακής απόκρισης στα νέα κύτταρα που παράγουν ινσουλίνη. Τα νανোসωματίδια, χάρις στην αξιοσημείωτη ικανότητά τους να δρουν ως φορείς νουκλεϊκού οξέος, είναι πολύ πιθανόν στο

μέλλον να επιστρατευθούν για να επαναπρογραμματίσουν επιλεκτικά παθολογικά κύτταρα (Whitehead K. A., 2009).

Αναφορικά με τις παθήσεις των ματιών, οι οποίες προκαλούν μείζονα ανησυχία παγκοσμίως, λόγω της σημαντικής επίρρειας στην υγεία και την ψυχολογία των ασθενών και του περιβάλλοντός τους, αποτελούν προσφάτως πεδίο μεγάλου ερευνητικού ενδιαφέροντος. Οι τελευταίες εξελίξεις στις θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση τη νανοϊατρική μπορεί να αποφέρουν σημαντικά οφέλη για την αντιμετώπιση των κύριων αιτιών τύφλωσης που σχετίζονται με καταρράκτη, γλαύκωμα, διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και εκφυλισμό της ωχράς κηλίδας. Τα συστήματα μεταφοράς θεραπευτικών ουσιών, ενθυλακωμένων σε νανοσωματίδια, μπορούν να παρατείνουν το χρόνο παραμονής του φαρμάκου στην επιφάνεια του κερατοειδούς, ενισχύοντας την απορρόφηση και την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων. Η βελτίωση της χορήγησης μπορεί να μειώσει τη συχνότητα των ενέσεων, να οδηγήσει σε μειωμένες παρενέργειες και να συμβάλλει στη συμμόρφωση αποτελεσματικά των ασθενών (Nanomedicine for Eye Diseases, n.d.).

Επειδή η νανοϊατρική, γενικά, προσφέρει μοναδικές διαγνωστικές και θεραπευτικές δυνατότητες για την αντιμετώπιση προβλημάτων στην κλινική ιατρική, μπορεί να γίνει επίσης σημαντικός αρωγός σε εφαρμογές κατά των μολυσματικών ασθενειών, για τις οποίες η συνεχής εμφάνιση, επανεμφάνιση και εξέλιξη των παθογόνων παραγόντων έχουν αποδειχθεί δύσκολες στην αντιμετώπιση με συμβατικές προσεγγίσεις. Με τις λιπιδικές μεμβράνες να διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στον κύκλο ζωής ιατρικά σημαντικών ιών, συμπεριλαμβανομένων των HIV, της γρίπης και του Ebola, οι διεπαφές κυτταρικής και ιϊκής μεμβράνης είναι ιδανικά στοιχεία για να ενσωματωθούν σε στρατηγικές ευρέος φάσματος κατά αυτών (Jackman, 2016).

Τα κύρια μειονεκτήματα των συμβατικών αντιμικροβιακών παραγόντων είναι η ανάπτυξη αντοχής στα φάρμακα, παράλληλα με την εμφάνιση δυσμενών παρενεργειών. Η αντοχή αυτή επιβάλλει τη χορήγηση υψηλών δόσεων αντιβιοτικών, προκαλώντας συχνά σοβαρή τοξικότητα και δημιουργώντας απαιτήσεις για ανάπτυξη νέων, ισχυρότερων φαρμάκων. Ως εκ τούτου, το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι στραμμένο στη δημιουργία μη παραδοσιακών αντιβιοτικών παραγόντων, οι οποίοι θα είναι ικανοί να υπερπηδήσουν το εμπόδιο της αντίστασης που αναπτύσσεται από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς, έναντι των περισσότερων από τα συνήθως χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά. Για τον σκοπό αυτό, έχουν επιστρατευθεί διάφορες κατηγορίες αντιμικροβιακών NPs και νανοσωματιδιακών φορέων, που

έχουν επιδείξει σχετική αποτελεσματικότητα στη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών, τόσο σε ζωικά μοντέλα, όσο και σε δοκιμές *in vitro* (Jackman, 2016). Νέες μέθοδοι ταχείας ανίχνευσης ιγνών παθογόνων μικροοργανισμών, με ακρίβεια και υψηλή ευαισθησία, βρίσκονται σε διαρκή αναζήτηση για την πρόληψη επιδημιών και πανδημιών. Τα ευπροσάρμοστα βιοενεργοποιημένα μηχανικά νανοϋλικά υπόσχονται την κάλυψη αυτών των αναγκών, αφού οι μοναδικές τους ιδιότητες τα καθιστούν κατάλληλα για τη βιοαπόδειξη, απεικόνιση, ανίχνευση και σύλληψη μολυσματικών ιών και βακτηρίων σε διαλύματα, τρόφιμα και βιολογικά δείγματα (Padmavathy, 2010).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το πόνημα αυτό περιλαμβάνει διάφορες προσεγγίσεις που αφορούν στην αντιμετώπιση σοβαρών παθήσεων, οι οποίες αποτελούν τις κύριες αιτίες θανάτου στον σύγχρονο κόσμο. Μεταξύ αυτών, ξεχωρίζουν οι καρκινογενέσεις, τα προβλήματα που σχετίζονται με το καρδιαγγειακό σύστημα και οι διαταραχές του κεντρικού νευρικού συστήματος, ακριβώς επειδή μειώνουν κατά πολύ το προσδόκιμο ζωής και υποβιβάζουν την ποιότητα διαβίωσης των ασθενών. Η κύρια εστίαση είναι προσανατολισμένη στη χρήση διαφορετικών θεραπευτικών προσεγγίσεων που βασίζονται στη νανοτεχνολογία, για την πλήρη θεραπεία του καρκίνου, την αποτελεσματική αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών νοσημάτων και τη διάνοιξη οδών επικοινωνίας με τον εγκέφαλο, για την καταπολέμηση των ανιάτων, μέχρι σήμερα, παθήσεων του νευρικού συστήματος.

Τα Νανοφάρμακα, όπως συζητήθηκε, μπορεί να γίνουν η κύρια επιλογή θεραπείας για όλους τους διαφορετικούς τύπους καρκίνου, λόγω της εξαιρετικής αποτελεσματικότητάς τους στη διείσδυση, την ειδική συγκράτηση και τη θανάτωση των καρκινικών κυττάρων. Επίσης, μπορεί να αποτελέσουν χρήσιμα εργαλεία στην ανίχνευση, διάγνωση και θεραπεία των καρδιαγγειακών νοσημάτων και να γίνουν η γέφυρα επικοινωνίας μεταξύ των διαφόρων φαρμακομορφών και του εγκεφάλου. Ωστόσο, υπάρχουν πολλά ζητήματα που πρέπει να διευθετηθούν κατά προτεραιότητα, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί το μέγιστο όφελος από τις πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της νανοϊατρικής. Τα φάρμακα, εν γένει, δεν είναι ακίνδυνα. Αντίθετα, μπορούν πολλές φορές να οδηγήσουν σε παρενέργειες, είτε λόγω κακής διανομής στην θέση όπου εντοπίζεται η παθολογία της εκάστοτε ασθένειας, είτε λόγω κυτταροτοξικότητας, η οποία οδηγεί στην καταστροφή υγιών ιστών και οργάνων παράλληλα με την καταστροφή των επιθυμητών κυττάρων-στόχων. Ειδικά τα συμβατικά φάρμακα, κυρίως τα αντικαρκινικά είναι, όπως είδαμε, ιδιαίτερα τοξικά και επικίνδυνα, ενώ η αποτελεσματικότητά τους είναι αμφίβολη. Όμως, οι νανοφαρμακευτικές ουσίες είναι δυνητικά σε θέση να λειτουργήσουν επιτυχώς στην παράδοση φαρμάκων, για την θεραπεία των διαφόρων παθήσεων, εξασφαλίζοντας την επάρκεια στη δοσολογία και το χρόνο δράσης της χορηγούμενης θεραπευτικής ουσίας, καθώς και την ακρίβεια στη θέση-στόχο.

Ορισμένα από τα πιο γνωστά φαρμακευτικά σκευάσματα, βασισμένα στην ιατρική νανοτεχνολογία, που διατίθενται ήδη στο εμπόριο είναι, όπως είδαμε, το Abraxane (πακλιταξέλ η δεσμευμένη με νανοσωματίδια αλβουμίνης), που έχει εγκριθεί από την Αμερικανική Υπηρεσία

Τροφίμων και Φαρμάκων και προορίζεται για τη θεραπεία μεταστατικών καρκίνων, όπως του καρκίνου του μαστού, του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα και του καρκίνου του παγκρέατος. Άλλο, επίσης ευρείας χρήσης, στοχοφάρμακο είναι το Doxil, το οποίο, αν και πήρε έγκριση για την θεραπεία του σαρκώματος Kaposi, χρησιμοποιείται σήμερα και για την θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών και του πολλαπλού μυελώματος (Martis, 2012). Η κλινική δοκιμή βρίσκεται σε εξέλιξη από το 2011 για τη χρήση των C-dots (κουκκίδες Cornell), που είναι τα μικρότερα νανοσωματίδια με βάση το πυρίτιο, για χρήση ως διαγνωστικό εργαλείο στην αναγνώριση των συντεταγμένων των καρκινικών όγκων, κατά τη διεξαγωγή χειρουργικών επεμβάσεων.

Επί του παρόντος, οι κύριοι τομείς ανάπτυξης των νανοφαρμακευτικών συστημάτων περιλαμβάνουν εμφυτεύσιμα υλικά και συσκευές, βιοφαρμακευτικά προϊόντα και διαγνωστικά εργαλεία. Ειδικά τα εμφυτεύσιμα υλικά έχουν πολλαπλή εφαρμογή, αφού μπορούν να συμμετέχουν αποτελεσματικά στην επιδιόρθωση και αντικατάσταση ιστών (π.χ. επιχρίσματα εμφυτεύματος, ικρίωματα αναγέννησης ιστών κλπ.), ως δομικά υλικά εμφυτεύσεων (π.χ. αποκατάσταση οστών), ως νανοαισθητήρες ή αισθητικά βοηθήματα (π.χ. εμφυτεύματα αμφιβληστροειδούς), κλπ. Είναι εγκεκριμένη επίσης η χρήση νανορομποτικών συστημάτων για τη θεραπεία των παθήσεων της χοληδόχου κύστης, του προστάτη, του παχέος εντέρου, του οισοφάγου, των γυναικολογικών νοσημάτων και πλείστων άλλων παθήσεων για τις οποίες απαιτούνται ακριβείς και λεπτομερείς χειρισμοί.

Συνοψίζοντας όλα τα προηγούμενα, μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα ότι τα νανοφάρμακα αποτελούν ένα πολύτιμο σύνολο ερευνητικών εργαλείων και κλινικά χρήσιμων συσκευών, που παρέχει ευκαιρίες για το σχεδιασμό και τον συντονισμό ιδιοτήτων που δεν είναι δυνατές με άλλους τύπους θεραπευτικών φαρμάκων. Στο εγγύς μέλλον, ίσως αποτελέσουν τον αποκλειστικό τρόπο αντιμετώπισης των ασθενειών στον άνθρωπο, αφού η δυναμική τους δεν περιορίζεται από αυστηρά πλαίσια, αλλά επιδεικνύει και αποδεικνύει καθημερινά στους ερευνητές την τεράστια γκάμα συνδυασμών, δυνατοτήτων και εφαρμογών. Το μέλλον τους διαγράφεται λαμπρό, αφού η ανάπτυξη πολυλειτουργικών νανοσωματιδίων μπορεί τελικά να καταστήσει τα νανοσωματίδια ικανά να ανιχνεύουν και να καταστρέφουν πολλές ασθένειες ταυτόχρονα. Παρόλο που υπάρχουν ορισμένα κρίσιμα ερωτήματα και πολλές προκλήσεις σχετικά με την κλινική τους ανάπτυξη, ωστόσο, η περαιτέρω εμβάθυνση στη νανοτεχνολογία θα οδηγήσει σίγουρα στον ορθολογικό σχεδιασμό βελτιστοποιημένων νανοσωματιδίων με

μεγαλύτερη επιλεκτικότητα, αποτελεσματικότητα και ασφάλεια. Σίγουρα, κάτι τέτοιο δεν θα είναι μια απλή διαδικασία, αλλά ένα σύνολο επίπονων και χρονοβόρων ομαδοσυνεργατικών προσπαθειών, με απαίτηση για διεπιστημονική σύμπραξη και εμπειριστατωμένη γνώση. Οι επιστήμονες όλων των πεδίων γνώσης, που εργάζονται για τον αναδυόμενο ναοϊατρικό τομέα θα πρέπει να έχουν ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τα τοξικολογικά προβλήματα των νανοφαρμάκων, τους δυνητικούς κινδύνους για την υγεία και την ασφάλεια των ασθενών, καθώς και για το ευρύτερο περιβάλλον που θα επηρεαστεί από τη χρήση τους. Η κατανόηση τόσο των πλεονεκτημάτων όσο και των κινδύνων από τις νέες εφαρμογές της νανοτεχνολογίας είναι απαραίτητη για τη λήψη ορθών αποφάσεων από τους υπεύθυνους ανάπτυξης φαρμάκων, τους ρυθμιστές και, τελικά, τους καταναλωτές και τους ασθενείς που θα ωφεληθούν από τις νέες τεχνολογίες παράδοσης φαρμάκων.

Βιβλιογραφία

- Agyare, E. K. (2008). Agyare EK, Curran GL, Ramakrishnan Development of a smart nano-vehicle to target cerebrovascular amyloid deposits and brain parenchymal plaques observed in Alzheimer's disease and cerebral amyloid angiopathy. *Agyare EK, Curran GL, Ramakrishnan M, Yu CC, Poduslo JF, Kandimalla KK. Development of a smart nano-vehicle to target cerebrovascular amyloid deposits and braPharm Res; 25(11), 2674-2684.*
- Ai, J. B. (2011). Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *Int J Nanomedicine; 6, 1117-1127.*
- Alberts, B. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. New York: Cerland Publ.
- Ambesh, P. C. (2017). Nanomedicine in coronary artery disease. *Indian Heart Journal: Vol. 69, 244-251.*
- Anvica, T. G. (2013). Short Review on Application of Gold Nanoparticles. *Global Journal of Pharmacology. 7(1), 34-38.*
- Arachchige, M. P. (2017). Functionalized nanoparticles enable tracking the rapid entry and release of doxorubicin in human pancreatic cancer cells. *Micron; 92,, 25-31.*
- Bamrungsap, S. Z. (2012). Nanotechnology in Therapeutics: A Focus on Nanoparticles as a Drug Delivery System. *Nanomedicine;7(8):1253-1271. , 1253-1271.*
- Baratchi, S. K. (2008). Promises of nanotechnology for drug delivery to brain in neurodegenerative diseases. *Curr Nanosci.; 5, 1-11.*
- Bekyarova, E. N. (2005). Applications of Carbon Nanotubes in Biotechnology and Biomedicine. *PMC. J Biomed Nanotechnol. 2005 Mar 1; 1(1): 3–17.*
- Bernand, L. (1997, July 22). *Smallest guitar, about the size of a human blood cell, illustrates new technology for nano-sized electromechanical devices* . Retrieved from Cornell Cronicle: <http://news.cornell.edu/stories/1997/07/worlds-smallest-silicon-mechanical-devices-are-made-cornell>
- Bharali, D. J. (2010). Emerging nanomedicines for early cancer detection and improved treatment: Current perspective and future promise. *Pharmacology & Therapeutics: 128, 324-335.*
- Bi, F. Z. (2009). Chemical conjugation of urokinase to magnetic nanoparticles for targeted thrombolysis. *Biomaterials.; 30, 5125-5130.*
- Biswas, A. e. (2012). Andvances in top-down and bottom-up surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects. *ELSEVIER, 3-22.*
- Bringold, F. a. (2000, May 3). Tumor suppressors and oncogenes in cellular senescence . *Experimental Gerontology, vol. 35, no 3, pp. 248-254.*
- Brito, L. A. (2007). Nanoparticulate carriers for the treatment of coronary restenosis. *Int J Nanomedicine. ;2(2), 143-161.*

- Bryan, G. M. (1999). The natural history and biology of cancer. In R. E. Pollock, *Manual of Clinical Oncology* (pp. 1-17). New York: Wiley-Liss.
- Buxton, D. B. (2009). Nanomedicine for the management of lung and blood diseases. *Nanomed. Nanomed.;* 4(3), 331-339.
- Calvo, P. G. (2002). Quantification and localisation of PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles in brain and spinal cord during allergic encephalomyelitis in the rat. *Eur J Neurosci.*;15(8), 1317-1326.
- Carroll, R. T. (2010). Brain-targeted delivery of Tempol-loaded nanoparticles for neurological disorders. *J Drug Targe;* 18(9), 665-674.
- Chang, J. S. (2007). In vitro cytotoxicity of silica nanoparticles at high concentration strongly depends on the metabolic activity type of the cell line. *Environ. Sci. Technol.*; 41 (6), 2064-2068.
- Charles, N. O. (2010). Charles N., Ozawa T., Squatrito M., Bleau A. M., Brennan C. W., Hamba Perivascular nitric oxide activates notch signaling and promotes stem-like character in PDGF-induced glioma cells. *Cell Stem Cell*; 6, 141-152.
- Chemotherapy Side Effects.* (2016, February 15). Retrieved from American Cancer Society: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/chemotherapy-side-effects.html>
- Choi, H. S. (2010). Nanoparticles for biomedical imaging: fundamentals of clinical translation. *Mol imaging*; 9 (6), 291-310.
- Chuang, E. Y. (2013). Calcium depletion-mediated protease inhibition and apical-junctional-complex disassembly via an EGTA-conjugated carrier for oral insulin delivery. *J Control Release*; 169 (3), 296-305.
- Corot, C. e. (2006). Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Adv Drug Deliv Rev.*; 58(14), 1471-1504.
- Couvreux, P. D. (1995). Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *Eur J Pharm Biopharm.* 41:2-13.
- Cvitkovic, E. (1998). Cumulative toxicities from cisplatin therapy and current cytoprotective measures. *Cancer Treat Rev*: 24, 265-281.
- Davson, H. S. (1996). Physiology of the CSF and blood-brain barriers. In B. Raton, *Special aspects of the blood-brain barrier* (pp. 303-485). CRC Press.
- Derfus, A. C. (2004). Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots. *Nano Letters*, vol. 4, no. 1, 11-18.
- des Rieux, A. F. (2006). Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach. *J Control Release*; 116 (1), 1-27.
- Dikpati, A. M. (2012). Targeted Drug Delivery to CNS using Nanoparticles. *J Adv Pharm Sci*; 2(1), 179-191.
- Dimmeler, S. (2011). Cardiovascular disease review series. *EMBO Mol Med.*; 3(12), 697.

- Duncan, R. (2003, May). The dawning era of polymer therapeutics. *Nature Rev. Drug Disc.* 2:347-60, p. 357.
- Feynman, R. P. (1959, December 29). *There's Plenty of Room at the Bottom*. Retrieved from Caltech Magazine Office of Strategic Communications: <http://calteches.library.caltech.edu/47/2/1960Bottom.pdf>
- Fillmore, H. L. (2011). Conjugation of functionalized gadolinium metallofullerenes with IL-13 peptides for targeting and imaging glial tumors. *Nanomedicine (Lond)*; 6(3), 449-458.
- Francis, M. F. (2005). Exploiting the vitamin B12 pathway to enhance oral drug delivery via polymeric micelles. *Biomacromolecules*; 6 (5), 2462-2467.
- Frese, K. K. (2012). nab-Paclitaxel potentiates gemcitabine activity by reducing cytidine deaminase levels in a mouse model of pancreatic cancer. *Cancer Discov.*; 2, 260-269.
- Gao, H. (2016, July). Progress and perspectives on targeting nanoparticles for brain drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, Vol. 6, Issue 4, pp. 268-286.
- Gao, X. C. (2004). In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol*; 22, 969-976.
- Gao, X. H. (2003). Doping mesoporous materials with multicolor quantum dots,. *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 107, no. 42, 11575–11578.
- Garrido-laguna, I. H. (2015). Pancreatic cancer: From state-of-the-art treatments to promising novel therapies. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*; 12, 319–334.
- Gelperina, S. M. (2010). Drug delivery to the brain using surfactant-coated poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles: influence of the formulation parameters. *Eur J Pharm Biopharm*; 74(2), 157-163.
- Geraghty, J. W. (1999). Cancer diagnosis. In R. E. Pollock, *Manual of Clinical Oncology* (pp. 201-214). New York: Wiley-Liss.
- Godin, B. S. (2010). Emerging applications of Nanomedicine for therapy and diagnosis of cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol Sci.*; 31(5), 199-205.
- Gradishar, W. J. (2005). Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 23, 7794-7803.
- Gref, R. M. (1194). Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science. Mar 18*; 263 (5153): 1600-3.
- Guo, J. G. (2011). Aptamer-functionalized PEG-PLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery. *Biomaterials*; 32(31), 8010-8020.
- Guteress, S. S. (2007). Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. *Drug Target Insights*. 2007; 2: 147–157.

- Habash, R. W. (2006). Thermal therapy, part 2: Hyperthermia techniques. *Crit Rev Biomed Eng*;34, 491-542.
- Hanahan, D. W. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*; 100, 57-70.
- Hanahan, D. W. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 646-674.
- He, H. P.-H.-H. (2013). Carbon Nanotubes: Applications in Pharmacy and Medicine. *BioMed Research International*, 1-13.
- Heisig, P. (2009). Type II topoisomerases-Inhibitors, repair mechanisms and mutations. *Mutagenesis*: 24, 465-469.
- Hidalgo, M. C.-M. (2015). Addressing the challenges of pancreatic cancer: Future directions for improving outcomes. *Pancreatology*; 15, 8-18.
- How Chemotherapy Drugs Work*. (2016, February 15). Retrieved from American Cancer Society: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-chemotherapy-drugs-work.html>
- How Is Chemotherapy Used to Treat Cancer?* (2016, February 16). Retrieved from American Cancer Society: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-is-chemotherapy-used-to-treat-cancer.html>
- Howarth, M. T. (2005). Targeting quantum dots to surface proteins in living cells with biotin ligase. *Proc Natl Acad Sci USA*: 102, 7583-7588.
- Hu, K. L. (2009). Lactoferrin-conjugated PEG-PLA nanoparticles with improved brain delivery: in vitro and in vivo evaluations. *J Control Release*; 134(1), 55-61.
- Huang S, L. J. (2011). Dual target ing effect of Angiopep- 2-modified, DNA-loaded nanoparticles for glcoma. *Biomaterials*; 32(38), 6832-6838.
- Huang, R. K. (2010). Lactoferrin-modified nanoparticles could mediate efficient gene delivery to the brain in vivo. *Brain Res Bull*; 81(6), 600-604.
- Huang, R. K. (2011). Targeted delivery of chlorotoxin-modified DNA-loaded nanoparticles to glioma via intravenous administration. *Biomaterials*; 32(9), 2399-2406.
- Huang, S. S. (2013). Tumor-targeting and microenvironment-responsive smart nanoparticles for combination therapy of antiangiogenesis and apoptosis. *ACS Nano*; 7, 2860-271.
- Huang, Y. F. (2017). Current applications and future prospects of nanomaterials in tumor therapy. *Int J Nanomedicine*.; 12, 1815-1825.
- Huile, G. S. (2011). A cascade targeting strategy for brain neuroglial cells employing nanoparticles modified with angiopep-2 peptide and EGFP-EGF1 protein. *Biomaterials*; 32(33), 8669-8675.
- Jackman, J. ,. (2016). Nanomedicine for Infectious Disease Applications: Innovation towards Broad-Spectrum Treatment of Viral Infections. *Small* ;12(9), 1133-9.

- Jain, A. J. (2008). In vitro and cell uptake studies for targeting of ligand anchored nanoparticles for colon tumors. *Eur J Pharm Sci*; 35 (5), 404-416.
- Jain, K. K. (2005). The role of nanobiotechnology in drug discovery. *Drug Discov Today*, 1435-1442.
- Janes, K. A. (2001). Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin. *J Control Release*: 73, 255-267.
- Jin, S. H.-C. (2011). Application of Quantum Dots in Biological Imaging. *Journal of Nanomaterials*, 1-13.
- Johnson, G. B. (2007). Cancer diagnosis and staging. In M. E. Langhorne, *Oncology Nursing* (pp. 70-77). St. Louis: Mosby.
- Juckett, D. A. (n.d.). *Chemotherapy-Chemistry Encyclopedia*. Retrieved from Chemistry Explained Foundation and Application: <http://www.chemistryexplained.com/Ce-Co/Chemotherapy.html>
- Kabanova, A. V. (2007). Nanomedicine in the diagnosis and therapy of neurodegenerative disorders. *Prog Polym Sci.*; 32(8-9), 1054-1082.
- Kanwar, J. R. (2012). Neurological disorders and therapeutics targeted to surmount the blood–brain barrier. *Int J Nanomedicine.*; 7, 3259-3278.
- Karagkiozaki, V. P. (2016). The melding of nanomedicine in thrombosis imaging and treatment: a review. *Future Sci OA.*; 2(2): FSO113.
- Katsuki, S. M.-i. (2017, December 22). Anti-inflammatory Nanomedicine for Cardiovascular Disease. *Front. Cardiovasc. Med*.
- Knop, K. H. (2010). Poly(ethylene glycol) in drug delivery: pros and cons as well as potential alternatives. *Chem. Int. Ed.*; 49, 6288-6308.
- Kooi ME, e. a. (2003). Accumulation of ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide in human atherosclerotic plaques can be detected by in vivo magnetic resonance imaging. *Circulation.*; 107(19), 2453-2458.
- Kreuter, J. (2001). Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Adv Drug Deliv Rev.*; 47(1), 65-81.
- Krishnan, K. M. (2010). Biomedical Nanomagnetism: A spin through possibilities in imaging diagnostics and therapy. *IEEE Transactions on Magnetics* 46, 2523-2558.
- Kumari, P. G. (2015). Nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *Journal of Drug Targeting* 24(3):1-13, 1-13.
- Lam, C. W. (2004). Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol. Sci.*; 77 (1), 126-134.
- Langner, M. K. (1999). Liposome-based drug delivery systems. *Polish Journal of Pharmacology*; 51(3), 211-222.
- Lee, S. S. (2016). Update on the Management of Pancreatic Cancer in Older Adults. *Curr. Oncol. Rep.*; 18, 60.

- Leong, K. L. (1987). Polymeric Controlled Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery*.
- Lewinski, N. e. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. *Small. Jan; 4(1)* 26-49.
- Li, J. F. (2011). Targeting the brain with PEG-PLGA nanoparticles modified with phage-displayed peptides. *Biomaterials; 32(21)*, 4943-4950.
- Li, Z. B. (2009). Li Z., Bao S., Wu Q., Wang H., Eyler C., Hypoxia-inducible factors regulate tumorigenic capacity of glioma stem cells. *Cancer Cell; 15*, 501-513.
- Ma, Q. a. (2010). Near-infrared quantum dots: synthesis, functionalization and analytical. *PubMed: 135 (8)*, 1867-1877.
- Ma, Y. H. (2009). Magnetically targeted thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator bound to poly-acrylic acid-coated nanoparticles. *Biomaterials*, 3343-3351.
- Manish P. Patel, e. a. (2010). Chitosan Mediated Targeted Drug Delivery System: A Review. *J Pharm Pharmaceutic Sci 13,3*, 536-557.
- Martin, F. J. (1998). Clinical pharmacology and antitumor efficacy of DOXIL (pegylated liposomal doxorubicin). In & D. D. Lasic, *Medical applications of liposomes* (pp. 635-688). New York, USA: Elsevier Science BV.
- Martis, E. A. (2012). Nanotechnology based devices and applications in medicine. An overview . *Chronicles of Young Scientists;3*, 68-73.
- Massimiliano Di Ventra, S. E. (2004). *Introduction to Nanoscale Science and Technology*. Boston: Springer US.
- Matakidou, A. E.-9. (2006). Genetic basis of cancer. In N. R. Kearney, *Genetic basis of cancer, in Nursing Patients with Cancer: Principles and Practice* (pp. 73-95). Edinburgh: Elsevier.
- McCarthy, J. R. (2010). Nanomedicine and Cardiovascular Disease. *Curr Cardiovasc Imaging Rep.; 3(1)*, 42-49.
- Michalet, X. P. (2005). Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science, vol. 307, no. 5709*, 538–544.
- Mishra, S. W. (2004). PEGylation significantly affects cellular uptake and intracellular trafficking of non-viral gene delivery particles. *Eur. J. Cell Biol.; 83*, 97-111.
- Mitra, S. G. (2001). Tumour targeted delivery of encapsulated dextran-doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. *J Contror Release: 74*, 317-323.
- Moghimi Moein, S. H. (2005). Nanomedicine: current status and future prospects. *The FASEB Journal*, 324.
- Mohyeldin, A. G.-M.-H. (2010). Mohyeldin A., Garzon-Muvdi T., QuinonOxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche. *Cell Stem Cell; 7*, 150-161.
- Moreno, M. d. (2008). Metabolic effects of thyroid hormone derivatives. *Thyroid 18*, 239-253.

- Mori, S. M. (2004). Studies on the intestinal absorption of low molecular weight heparin using saturated fatty acids and their derivatives as an absorption enhancer in rats. *Biol Pharm Bull*; 27 (3), 418-421.
- Morishita, T. (2013, October 27). *Central Nervous System Disease*. Retrieved from International Neuromodulation Society: <http://www.neuromodulation.com/central-nervous-system-disease-definition>
- Mura, S. N. (2013). Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat. Mater*; 12, 991-1003.
- Murray, C. J. (1997, May 3). Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *The Lancet*; Volume 349, Issue 9061, pp. 1269-1276.
- Nanomedicine for Eye Diseases*. (n.d.). Retrieved from John Hopkins Medicine: <https://cnm-hopkins.org/eye/>
- Nanomedicine in Cancer*. (n.d.). Retrieved from nanomedicine European Technology Platform: <https://www.etp-nanomedicine.eu/public/about-nanomedicine/nanomedicine-applications/nanomedicine-in-cancer>
- Nanomedicine targeting atherosclerosis* . (n.d.). Retrieved from nanomedicine European Technology Platform: <https://www.etp-nanomedicine.eu/public/about-nanomedicine/nanomedicine-applications/nanomedicine-targeting-atherosclerosis>
- Nanomedicine to fight Diabetes* . (n.d.). Retrieved from nanomedicine European Technology Platform: <https://www.etp-nanomedicine.eu/public/about-nanomedicine/nanomedicine-applications/nanomedicine-to-fight-diabetes>
- Neely, A. P. (2009). Ultrasensitive and highly selective detection of Alzheimer's disease biomarker using two-photon Rayleigh scattering properties of gold nanoparticle. *ACS Nano*; 3(9), 2834-2840.
- Nidome, T. Y. (2006). PEG-modified gold nanorods with a stealth character for in vivo applications. *J Control Release*; 114 (3), 343-347.
- Nishiyama, N. &. (2006). Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol Ther.*, 630-648.
- Oberoi, H. S. (2013). Nanocarriers for delivery of platinum anticancer drugs. *Adv Drug Deliv Rev.*: 65(0), 1667-1685.
- Omerod, K. (2007). Diagnostic evaluation, classification, and staging. In K. D. Omerod, *Cancer Nursing: Principles and Practice* (pp. 153-180). Massachusetts: Jones and Bartlett.
- Onoue, S. M. (2012). Inhalable sustained-release formulation of long-acting vasoactive intestinal peptide derivative alleviates acute airway inflammation. *Peptides*; 35 (2), 182-189.
- Onoue, S. S. (2012). Inhalable dry-emulsion formation of cyclosporine A with improved anti-inflammatory effects in experimental asthma/COPD-model rats. *Eur J Pharm Biopharm*; 80 (1), 54-60.

- Onoue, S. Y. (2014). Nanodrugs: pharmacokinetics and safety. *International Journal of Nanomedicine* 2014; 9 1025-1037, 1025-1037.
- Padmavathy, T. A. (2010). Nanobioimaging and sensing of infectious diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 62 (4-5), 424-437.
- Pardridge, W. M. (1995). PardridHuman insulin receptor monoclonal antibody undergoes high affinity binding to human brain capillaries in vitro and rapid trans-cytosis through the blood–brain barrier in vivo in the primate. *Pharm Res.*; 12(6), 807-816.
- Park, J. G. (2009). Biodegradable luminescent porous silicon nanoparticles for in vivo applications. *Nature Materials*, vol. 8, no. 4, 331-336.
- Park, J. G. (2011). Modulation of CD4+ T lymphocyte lineage outcomes with targeted, nanoparticle-mediated cytokine delivery. *Mol Pharm*; 8(1), 143-152.
- Park, J. W. (2002). Liposome-based drug delivery in breast cancer treatment. *Breast cancer Res*, 95-99.
- Petri, B. B. (2007). Chemotherapy of brain tumor using doxorubicin bound to surfactant-coated poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles: revisiting the role of surfactants. *J Control Release*; 117(1), 51-58.
- Petros, R. A. (2010). Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov.*; 9 (8), 615-627.
- Poole, C. P. (2003). *Introduction to Nanotechnology*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Rapoport S. I., O. K. (1978). Regional cerebrovascular permeability to [14C] sucrose after osmotic opening of the blood–brain barrier. *Brain Res.*; 50(3), 653-657.
- Rieger, P. (2006). Cancer biology and implications for practice. *Clinical Journal of Oncology Nursing*; 10 (4), 457-460.
- Roger, E. L. (2010). Biopharmaceutical parameters to consider in order to alter the fate of nanocarriers after oral delivery. *Nanomedicine (Lond)*; 5 (2), 287-306.
- Roney, C. K. (2005). Targeted nanoparticle delivery through blood–brain barrier for Alzheimer’s disease. *J Control Release.*; 108(2-3), 193-214.
- Rutger W.H.M. Staffhorsta, K. v. (2008). Antitumor activity and biodistribution of cisplatin nanocapsules in nude mice bearing human ovarian carcinoma xenografts. *Anti-Cancer Drugs*; 19, 721-727.
- Ryan, D. P. (2014). Pancreatic adenocarcinoma. *New Eng. J. Med.*; 371, 1039.
- Sayes, C. M. (2006). Funcionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro. *Toxicol. Lett.*; 161 (2), 135-142.
- Schultz, A. C. (2007). Nanotechnology: Industrial Revolution or Emerging Hazard? *Environmental Claims Journal*, 199-205.
- Selvan, S. T. (2010). Silica-coated quantum dots and magnetic nanoparticles for bioimaging applications. *Biointerphases*, vol. 5, no. 3, FA110–FA115.

- Serda R. E., G. B. (2009). Mitotic trafficking of silicon microparticles. *Nanoscale*; 1(2), 250-259.
- Shahbazi, M. A. (2013). Improving oral absorption via drug-loaded nanocarriers: absorption mechanisms, intestinal models and rational fabrication. *Curr Drug Metab*; 14 (1), 28-56.
- Shetake, N. G. (2016). Magnetic hyperthermia therapy: An emerging modality of cancer treatment in combination with radiotherapy. *Journal of Radiation and Cancer Research*; Vol. 7, Issue 1, 13-17.
- Sikora, K. (1999). The molecular basis of cancer. In R. E. Pollock, *Manual of Clinical Oncology* (pp. 45-61). New York: Wiley-Liss.
- Singh, A. G. (2010). Nanospheres: a novel approach for targeted drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 84-85.
- Singh, V. K. (2017). The Implications and Future Perspectives of Nanomedicine for Cancer Stem Cell Targeted Therapies. *Front Mol Biosci*; 4, 52.
- Sparreboom, A. S. (2005). Comparative preclinical and clinical pharmacokinetics of a cremophor-free, nanoparticle albumin-bound paclitaxel (ABI-007) and paclitaxel formulated in Chemophor (Taxol). *Clin Cancer Res* 11, 4136-4143.
- Sudhakar, A. (2009). History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J Cancer Sci Ther. Dec 1; 1(2)*, 1-4.
- Sun, T. Z. (2014). Engineered nanoparticles for drug delivery in cancer therapy. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014; 53 (46), 12320-64.
- Tian, X. H. (2011). Enhanced brain targeting of temozolomide in polysorbate-80 coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles. *Int J Nanomedicine*; 6, 445-452.
- Types of Cancer*. (2017, November 30). Retrieved from Cancer Research UK: <http://www.cancerresearchuk.org/what-is-cancer/how-cancer-starts/types-of-cancer>
- Vaccaro, V. S. (2015). Metastatic pancreatic cancer: Is there a light at the end of the tunnel? *World J. Gastroenterol*; 21, 4788.
- Van Gerpen, R. (2007). Pathophysiology. In M. E. Langhorne, *Oncology Nursing* (pp. 3-16). St. Louis: Mosby.
- Van Kasteren, S. I. (2009). Glyconanoparticles allow pre-symptomatic in vivo imaging of brain disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 106(1), 18-23.
- Vega-Villa, K. R. (2008). Clinical toxicities of nanocarrier systems. *Adv Drug Deliv Rev*; 60 (8), 929-938.
- Veisheh, O. T. (2015). Managing diabetes with nanomedicine: challenges and opportunities. *Nat Rev Drug Discov*; 14(1), 45-57.
- Von Hoff, D. D. (1982). The cardiotoxicity of anticancer agents. *Semin Oncol*; 9, 23-33.
- Von Hoff, D. E. (2013). Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *New Engl. J. Med*; 369, 1691-1703.

- Voulgari E1, B. A. (2016). Synthesis, characterization and in vivo evaluation of a magnetic cisplatin delivery nanosystem based on PMAA-graft-PEG copolymers. *Journal of controlled release*.
- Voulgari, E. e. (2016). *Synthesis, characterization and in vivo evaluation of a magnetic cisplatin delivery nanosystem based on PMAA-graft-PEG copolymers*. Patra: US National Library of Medicine National Institutes of Health.
- Vulimiri, S. a. (1999). *Carcinogenesis, in Manual of Clinical Oncology*. Wiley-Liss: New York: R.E. Pollock, Editor.
- Vulimiri, S. V. (1999). Carcinogenesis. In R. E. Pollock, *Manual of Clinical Oncology* (pp. 19-43). New York: Wiley-Liss.
- Wang, A. G.-M. (2008). Biofunctionalized targeted nanoparticles for therapeutic applications. *Expert Opin Biol Ther. Aug; 8(8): 1063-70*.
- Wang, E. C. (2013). Targeted Nanoparticles and their applications in Biology. *PubMed*, 2.
- Wang, Z. H. (2010). Trimethylated chitosan-conjugated PLGA nanoparticles for the delivery of drugs to the brain. *Biomaterials; 31(5)*, 908-915.
- Weiss, N. M. (2009). The blood–brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases. *Biochim Biophys Acta; 1788 (4)*, 842-857.
- Whitehead K. A., L. R. (2009). Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. *Nature Rev Drug Discov.; 8*, 129-138.
- Wick, P. M. (2007). The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity. *Toxicol Lett; 168 (2)*, 121-131.
- Wu, Y. Q. (2002). Carbon Nanowalls Grown by Microwave Plasma . *Advanced Materials*.
- Xi-Feng, Z. Z.-G. (2016). Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *PMC. Sep; 17(9): 1534*.
- Zhao-Zhin, J. e. (2011). Gold nanoparticles in cancer therapy. *PMC , Acta Pharmacol Sin. 2011 Aug; 32(8): 983–990*.