

Νανομηχανική και Νανοτεχνολογία στη Διάγνωση και στη Θεραπεία Παθήσεων του ΚΝΣ και Άλλων Νευρολογικών Διαταραχών

**Pramod Kumar^{a,*,c}, Aradhana Dwivedi^{b*}, Kitiporn Plaimas^d, Kalpana Sagar^e
και Lakshita Chauhan^a**

^aNIDAN Kendra, Genetic Centre, Army Hospital Research and Referral, New Delhi, India. ^bDepartment of Pediatrics, Army Hospital Research and Referral, New Delhi, India. ^cProgram in Bioinformatics and Computational Biology, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. ^dDepartment of Mathematics and Computer Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand. ^eDepartment of Electronics and Communication Engineering, Jaypee Institute of Information Technology, Noida, Uttar Pradesh, India

3.1 Εισαγωγή

Οι ασθένειες του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) και οι διάφορες νευρολογικές διαταραχές είναι δύσκολο να αντιμετωπιστούν και αποτελούν σημαντικές προκλήσεις για την ανθρωπότητα. Η εκθετική ανάπτυξη διαφόρων πεδίων στην έρευνα για το ΚΝΣ προσελκύει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Σήμερα, οι διαταραχές του ΚΝΣ και οι νευρολογικές διαταραχές κατατάσσονται μεταξύ των περισσότερο απειλητικών για τη ζωή νοσημάτων καθώς και μεταξύ των νοσημάτων με τη μεγαλύτερη λειτουργική βλάβη. Οι διαταραχές του ΚΝΣ συμβάλλουν σημαντικά στην παγκόσμια επιβάρυνση του υγειονομικού συστήματος. Το 2016, οι νευρολογικές δι-

αταραχές ευθύνονταν για τον υψηλότερο αριθμό ετών ζωής με αναπηρία (disability-adjusted life-years - DALY) και τον δεύτερο υψηλότερο αριθμό θανάτων παγκοσμίως [1]. Μέχρι στιγμής, η διάγνωση και η θεραπεία νευρολογικών διαταραχών όπως η νόσος του Alzheimer (AD - Alzheimer's disease), η νόσος του Parkinson (PD - Parkinson's disease), η νόσος του Huntington (HD - Huntington's disease), οι τραυματισμοί της κεφαλής, οι όγκοι του εγκεφάλου και η επιληψία εξακολουθούν να αποτελούν προκλήσεις [2]. Πολυάριθμα φάρμακα έχουν δοκιμαστεί για χρήση στη θεραπεία των νευρολογικών διαταραχών, αλλά η αποτελεσματικότητά τους είναι περιορισμένη λόγω των πιο πά-

* Οι πρώτοι συγγραφείς συμμετείχαν εξίσου στη συγγραφή του κεφαλαίου

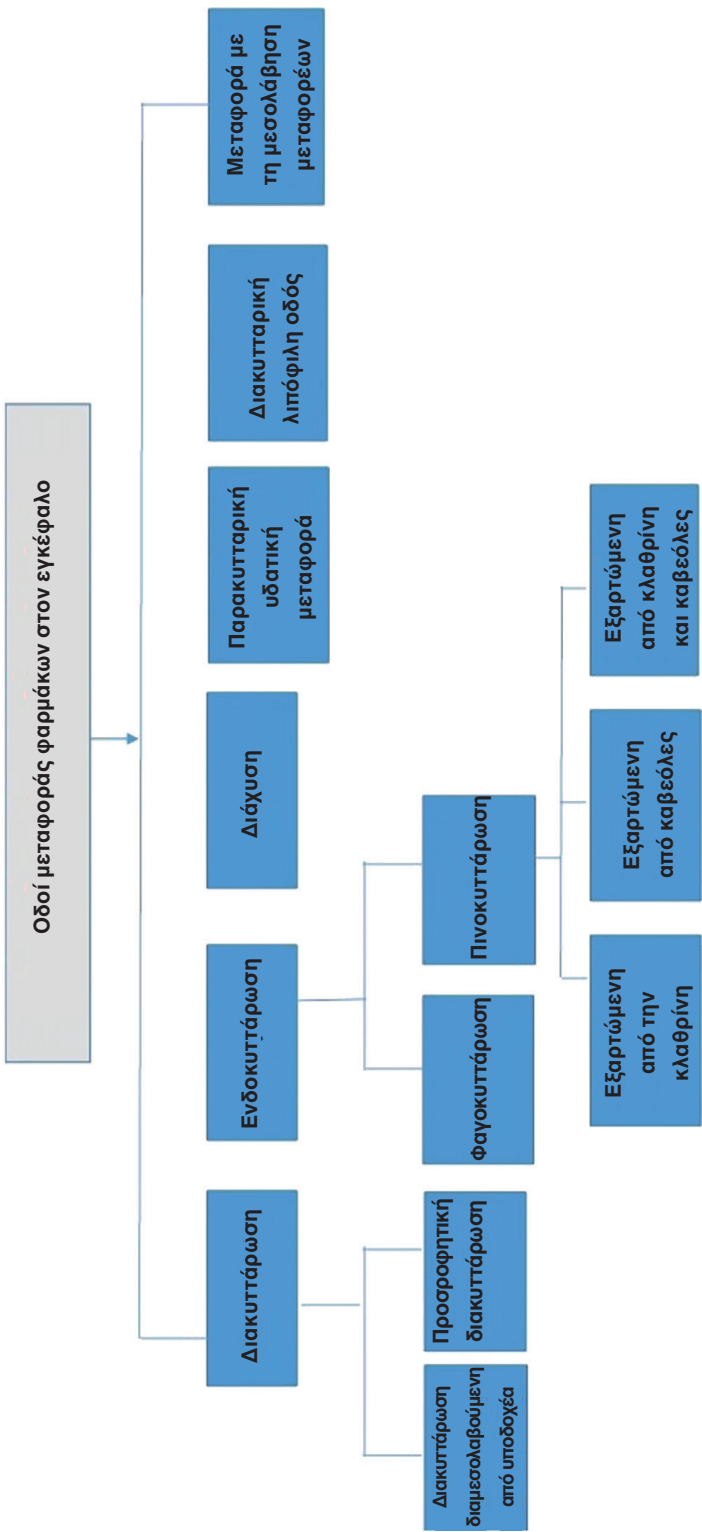
νω προκλήσεων.

Η πιο απαιτητική πτυχή στη θεραπεία και διάγνωση των παθήσεων του ΚΝΣ είναι η δυσκολία χορήγησης φαρμάκων, νουκλεϊκών οξέων, πρωτεϊνών, απεικονιστικών παραγόντων και άλλων μακρομορίων διαμέσου των περιφερικών φραγμών, ειδικά του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (blood-brain barrier BBB) αλλά και του φραγμού αίματος-εγκεφαλονωτιαίου υγρού (blood-cerebrospinal fluid barrier BCSFB) [3,4]. Στην Εικόνα 3.1 παρουσιάζονται οι διάφορες τρόποι μεταφοράς του φαρμάκου μέσω των οποίων το φάρμακο δύναται να εισέλθει στον εγκέφαλο.

Οι διαθέσιμοι νευροθεραπευτικοί παράγοντες έχουν δύο σημαντικά μειονεκτήματα όσον αφορά στην επίδρασή τους στα εγκεφαλικά κύτταρα. Οι παράγοντες αυτοί δεν μπορούν να εισέλθουν στα εγκεφαλικά κύτταρα λόγω ανεπαρκούς εισόδου διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και επίσης τα κύτταρα του ανοσοποιητικού δεν μπορούν να φτάσουν στον εγκέφαλο [5,6]. Τα περισσότερα από τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία νευρολογικών ασθενειών είναι λιπόφιλα από τη φύση τους, με μοριακό βάρος μεγαλύτερο από 400-500 Da, και συνεπώς δεν μπορούν να διασχίσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό σε φαρμακολογικά σημαντικές ποσότητες, ενώ τα μικρά λιπόφιλα μόρια (αλκοόλη και στεροειδείς ορμόνες) διεισδύουν μέσω ενός διακυτταρικού μηχανισμού. Επιπλέον, η παρουσία διαφόρων μεταφορέων υψηλής εκλεκτικότητας στα ενδοθηλιακά κύτταρα αναστέλλει επίσης τη διείσδυση των φαρμάκων. Η παρουσία στενών συνδέσμων (tight junctions - TJ) στις ενδοθηλιακές μεμβράνες δημιουργεί υψηλή διαενδοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (transendothelial electrical resistance - TEER) ($>1000 \text{ W cm}^2$) στα εγκεφαλικά τριχοειδή αγγεία [7]. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού εμποδίζουν τη διέλευση ενδογενών στοιχείων του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

Οι μεταφορείς κασέτας δέσμευσης ATP (ATP-binding cassette transporters - ABC transporters) βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και εμποδίζουν την είσοδο θεραπευτικών φαρμάκων, καθώς και νευροτοξικών παραγόντων, μεταβολιτών, ορμονών και άλλων διαμεσολαβητών. Αυτοί οι μεταφορείς είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες που απαιτούν ATP για τη μεταφορά μορίων διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών. Η πρωτεΐνη που σχετίζεται με αντίσταση σε πολλαπλά φάρμακα (Multiple drug resistance protein 1 - MDR1), επίσης γνωστή ως γλυκοπρωτεΐνη διαπερατότητας (permeability glycoprotein P-gp), η πρωτεΐνη πολλαπλής αντίστασης 4 (multiple resistance protein 4 - MRP4), το μέλος 4 της υποοικογένειας C της κασέτας δέσμευσης ATP (ABCC4) και η πρωτεΐνη αντίστασης στον καρκίνο του μαστού (breast cancer resistance protein - BCRP) ή το μέλος 2 της υποοικογένειας G της κασέτας δέσμευσης ATP (ABCG2) είναι όλα μέλη αυτής της οικογένειας [8]. Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός διατηρεί επίσης την ιοντική ομοιοστάση στις συνάψεις, όπου ρυθμίζει την είσοδο ιόντων καλίου (K^+), ασβεστίου (Ca_2^+), νατρίου (Na^+) και διατηρεί τις ελάχιστες απαιτούμενες συγκεντρώσεις.

Εκτός των διαταραχών του ΚΝΣ και του εγκεφάλου, το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι ένας τύπος ισχαιμικής νόσου που εκδηλώνεται ως αιφνίδια χρόνια νευρολογική δυσλειτουργία. Πρόκειται για μια αγγειακή πάθηση του ΚΝΣ κατά την οποία ο εγκέφαλος στερείται οξυγόνου, θρεπτικών συστατικών και γλυκόζης λόγω απόφραξης των αιμοφόρων αγγείων που τον τροφοδοτούν [9,10]. Τα συμπτώματα που μπορούμε να δούμε στον ασθενή είναι η παράλυση του προσώπου, των χεριών ή των ποδιών, η μονόπλευρη αδυναμία ή αφασία, η διαταραχή της όρασης, η δυσαρθρία, η σύγχυση, η απώλεια της ισορροπίας και του συντονισμού και μερικές φορές σε σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να επέλθει ακόμη και ο θάνατος. Το εγκεφαλικό επεισόδιο θεωρείται



Εικόνα 3.1 Σχηματική παρουσίαση των διαφόρων οδών μεταφοράς διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού

ως η τρίτη κύρια αιτία διαταραχής της υγείας στις αναπτυσσόμενες χώρες, η δεύτερη αιτία θανάτου παγκοσμίως και μία από τις μεγαλύτερες αιτίες θανάτου στις Ηνωμένες Πολιτείες. Μεταξύ όλων των περιπτώσεων εγκεφαλικού επεισοδίου, το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο παρατηρείται στο 80%-87% όλων των περιπτώσεων, ενώ οι υπόλοιπες περιπτώσεις αφορούν το αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Η διαθέσιμη θεραπεία του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι ο ενεργοποιητής ιστικού πλασμινογόνου (tissue plasminogen activator - tPA), ο οποίος έχει πολλά μειονεκτήματα, όπως η μικρή περίοδος παραθύρου, ο κυτταρικός θάνατος, η μη εξειδικευμένη δράση, το εγκεφαλικό οίδημα και η καταστροφή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού [11]. Η νανοτεχνολογία έχει θεωρηθεί πολλά υποσχόμενο εργαλείο για τη διάγνωση νευροεκφυλιστικών ασθενειών, ιδίως διαταραχών ισχαιμίας. Η πρόσβαση στο ΚΝΣ είναι η πιο δύσκολη πτυχή της επιτυχούς διάγνωσης και θεραπείας των νευρολογικών και ισχαιμικών παθήσεων. Η παρουσία δύο ανατομικών και βιοχημικών δυναμικών φραγμών, του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) και του φραγμού αίματος -εγκεφαλονωτιαίου υγρού (BCSFB), περιορίζει τη μεταφορά των φαρμάκων και των απεικονιστικών παραγόντων στο νευρικό σύστημα. Αυτοί οι φραγμοί διατηρούν το ΚΝΣ ασφαλές από το μεταβλητό περιβάλλον του αίματος. Για την επιτυχή διάγνωση και θεραπεία των νευρολογικών και ισχαιμικών παθήσεων απαιτούνται καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις που στοχεύουν στο ΚΝΣ με αποτελεσματικό και αποδοτικό τρόπο. Οι εξελίξεις στη νανοϊατρική προβλέπεται να έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην έρευνα της νευρολογίας και θα βοηθήσουν να μάθουμε περισσότερα για το ΚΝΣ και να αναπτύξουμε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις στη νευρολογική παρέμβαση [12,13].

Ως εκ τούτου, η εισαγωγή της νανοτεχνολογίας πιθανά θα φέρει επανάσταση στην ανίχνευση και τη θεραπεία των παθήσεων του ΚΝΣ.

3.2 Νανο-προσεγγίσεις για τη χορήγηση φαρμάκων στο ΚΝΣ

Η νανοτεχνολογία είναι μια νέα, πολλά υποσχόμενη και πρωτοποριακή μέθοδος για τη χορήγηση νευροθεραπευτικών φαρμάκων διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Τα νανοφάρμακα έχουν επιδείξει σημαντικές δυνατότητες στην είσοδο στο ΚΝΣ τις τελευταίες δεκαετίες λόγω του εύρους του μεγέθους τους, των μοναδικών φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους και της δυνατότητας αξιοποίησης επιφανειακά σχεδιασμένων βιοσυμβατών και βιοδιασπώμενων νανοϋλικών [14]. Η εξειδικευμένη μεταφορά φαρμάκων και άλλων χημικών ουσιών διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού με τη χρήση της νανοτεχνολογίας θα μπορούσε να να προσαρμοσθεί για την εκτέλεση εξειδικευμένων ρόλων σύμφωνα με τις υπάρχουσες ιατρικές απαιτήσεις. Το φάρμακο, το οποίο είναι το φαρμακολογικά ενεργό μόριο που πρέπει να μεταφερθεί, είναι ένα μέρος του νανομηχανικού συμπλέγματος, το οποίο έχει σχεδιαστεί για να εκτελεί και άλλες βασικές λειτουργίες, όπως η ενθυλάκωση του ενεργού φαρμάκου, η προστασία του από ενζυμική αποικοδόμηση, η απελευθέρωσή του σε συγκεκριμένο pH, η διέλευση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και η στόχευση συγκεκριμένων κυττάρων [15]. Λιποσώματα, PNPs, SLNs, μικκύλια, δενδριμερή και άλλα έχουν χρησιμοποιηθεί ως φαρμακολογικοί νανοφορείς.

3.3 Εφαρμογή των ΝΣ στη θεραπεία εγκεφαλικών νοσημάτων και διαταραχών

Όγκοι του εγκεφάλου

Ο όρος «όγκος του εγκεφάλου» αναφέρεται τόσο σε κακοήθεις όσο και σε καλοήθεις όγκους που εμφανίζονται στον εγκέφαλο. Λόγω της πολυπλοκότητας του εγκεφάλου

λου, όχι μόνο η μεταστατική αλλά ακόμη και η καλοήθης ανάπτυξη όγκου μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες. Περισσότερες από 308.102 νέες περιπτώσεις όγκου στον εγκέφαλο αναφέρθηκαν παγκοσμίως στην έκθεση του 2020 [16]. Η νοητική έκπτωση συνδέεται με την εξέλιξη της νόσου [17]. Η παθολογία της νόσου δεν είναι πλήρως κατανοητή και οι θεραπευτικές επιλογές είναι ακόμη άγνωστες. Από την άλλη πλευρά, τα ΝΣ έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν θεραπευτικό όφελος στη μεταφορά δυνητικών αντικαρκινικών φαρμάκων σε πολλαπλές έρευνες [18-20]. Η χρήση πολυμερικών ΝΣ για τη μεταφορά μικρών κατασταλτικών RNA (si RNA) σε διάφορα γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων για το συμμεταφορέα 1 νάτριου-κάλιου-χλώριου, το YAP1 (yes-associated protein 1), το ROBO1 (roundabout homolog 1), το EGFR (epidermal GF receptor) και του γονιδίου *survivin*, μπορεί να καταστείλει δραστικά και με επιλεκτικό τρόπο την ανάπτυξη και τη μετανάστευση των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος [21]. Τροποποιημένα πολυμερικά ΝΣ φορτωμένα με κινάση θυμιδίνης του ιού του απλού έρπητα τύπου 1 μαζί με γκανσυκλοβίρη έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν σημαντικά τη βιωσιμότητα των κυττάρων του γλοιώματος, ενώ παράλληλα αυξάνουν τη μακροζωία των ζώων που φέρουν τον όγκο [22]. Τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν τη χρήση των ΝΣ για τη μεταφορά γονιδίων και φαρμάκων σε όγκους του εγκεφάλου.

Εγκεφαλικές λοιμώξεις (Brain infections - BI)

Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από βακτήρια, ιούς, μύκητες και παράσιτα και προκαλούν φλεγμονή στον εγκέφαλο ή στους περιβάλλοντες ιστούς είναι γνωστές ως εγκεφαλικές λοιμώξεις (BI) [23]. Οι συχνότερες λοιμώξεις είναι βακτηριακής και ιογενούς αιτιολογίας. Η οξεία έως χρόνια

φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες και η νευρική βλάβη αποτελούν χαρακτηριστικά αυτών των ασθενειών. Σε ποντίκια, η θεραπεία με ΝΣ φορτωμένα με νερολιδόλη μπορεί να αποκαταστήσει αποτελεσματικά τα ελλείμματα μνήμης, ενώ παράλληλα σταθεροποιεί τα επίπεδα των δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS) και τις δραστηριότητες της ΑΤΡάσης Na-K και της εστεράσης της ακετυλοχολίνης, οι οποίες είχαν μεταβληθεί από τη μόλυνση με το παράσιτο *Trypanosoma evansi* [24]. Επιπλέον, η ενθυλάκωση της ελβιτεγκραβίρης (elvitegravir) σε PLGA ΝΣ αυξάνει την ανασταλτική δράση της σε μολυσμένα με HIV-1 μικρογλοιακά κύτταρα που προέρχονται από ανθρώπινα μονοκύτταρα καθώς και σε μοντέλο ποντικού χωρίς να διακυβεύεται η ακεραιότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού [25]. Τα μαγνητοηλεκτρικά ΝΣ φορτωμένα με CRISPR/CRISPR-associated protein 9/gRNA έχουν επίσης αποδειχθεί ότι αποτρέπουν τη μόλυνση από τον HIV-1 σε κύτταρα μικρογλοίας, υποδεικνύοντας ότι τα ΝΣ θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την παροχή γονιδιακής θεραπείας [26]. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι τα ΝΣ βελτιώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων κατά του HIV, συμπεριλαμβανομένων της δαρουναβίρης (darunavir), της ινδιναβίρης (indinavir) και της εφαβιρένζης (efavirenz), επιτρέποντάς τους να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να στοχεύσουν τις ιογενείς λοιμώξεις στον εγκέφαλο [27-29]. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι τα ΝPs φωσφορικού και υδροξειδίου του κοβαλτίου έχουν πιθανή ανασταλτική επίδραση στην τοξικότητα της κοκκιωματώδους αμοιβαδικής εγκεφαλίτιδας που προκαλείται από το γονότυπο T4 της *Acanthamoeba castellanii* [30]. Μειώνοντας την ικανότητα για δημιουργία κύστεων (encystation) και την κυτταροτοξικότητα, τα αντιδιαβητικά φάρμακα γλιμεπρίδη, ρεπαγλινίδη και βιλνταγλιπτίνη συζευγμένα με νανοσωματίδια αργύρου (Ag ΝΣ) μπορούν να καταστείλουν δρα-

ματικά την εγκεφαλική μόλυνση από *A. Castellanii*. Επιπλέον έρευνες δείχνουν ότι η χρήση ΝΣ Au και οξειδίου του ψευδαργύρου (ZnO) για τη θεραπεία ποντικών με λοίμωξη από *Schistosoma mansoni* μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την οξειδωτική/αντιοξειδωτική κατάσταση και τη νευρική βλάβη ρυθμίζοντας συγκεκριμένα γονίδια που μεταβάλλονται κατά τη λοίμωξη [31,32]. Παρομοίως, έχει βρεθεί ότι τα Au ΝΣ βελτιώνουν τα νευρολογικά συμπτώματα από τη μόλυνση με ιό του απλού έρπητα-1, αναστέλλοντας τη συσσώρευση του πεπτιδίου Ab και τη δράση της β-σεκρετάσης [33]. Σε μοντέλα ποντικών με εγκεφαλική φυματίωση, ιογενή εγκεφαλίτιδα και αμοιβαδική μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, η χορήγηση φαρμάκων με ΝΣ έχει επίσης δείξει σημαντική προοπτική [34-36]. Συνολικά, η χρήση των ΝΣ στις εγκεφαλικές λοιμώξεις θα μπορούσε να ελαχιστοποιήσει τις επιβλαβείς επιδράσεις, αυξάνοντας παράλληλα την αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Τραυματική εγκεφαλική βλάβη (Traumatic brain injury - TBI)

Η TBI είναι η πιο κοινή αιτία αναπηρίας και θνησιμότητας σχετιζόμενη με τραυματισμό, επηρεάζοντας περισσότερα από 69 εκατομμύρια άτομα κάθε χρόνο [37]. Η TBI προκαλείται από διάφορες αιτιολογίες, συμπεριλαμβανομένων των τροχαίων ατυχημάτων, των σπορ και των τραυμάτων από πυροβολισμούς. Το σύνδρομο συνδέεται με υψηλά επίπεδα μελανίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), τα οποία προάγουν το οξειδωτικό στρες και τις μεταβολικές ανωμαλίες. Φλεγμονώδεις δείκτες εντοπίζονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο ENY των ασθενών με TBI, και η τιμή των οποίων μπορεί να είναι ενδεικτική της σοβαρότητας της νόσου τους [38]. Η TBI έχει καθιερωθεί ως παράγοντας κινδύνου για νευροεκφυλιστικές παθήσεις όπως η νόσος του Alzheimer (AD) και η νόσος του Parkinson

(PD). Σε μοντέλα ποντικών, η ενθυλάκωση του εγκεφαλικού Νευροτροφικού παράγοντα (brain-delivered neurotrophic factor), του εκκρινόμενου από τα στρωματικά κύτταρα παράγοντα-1 (stromal derived-factor 1), της εγκεφαλολυσίνης (cerebrolysin) και των παραγόντων που αντιδρούν με ROS, σε ΝΣ έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τις νευρολογικές δυσλειτουργίες που προκαλούνται από TBI [32,39-41]. Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη, η χρήση ΝΣ οξειδίου του δημητρίου (CeO_2) για τη θεραπεία ενός μοντέλου ποντικού με TBI μπορεί να μειώσει δραστικά την εγκεφαλική βλάβη με την ανάκτηση των γνωστικών λειτουργιών και την ενίσχυση των αντιοξειδωτικών χαρακτηριστικών [43]. Η θεραπεία με ανοσοτροποποιητικά ΝΣ έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει σημαντικά τα κινητικά ελλείμματα και μειώνει τη φλεγμονή και το οίδημα σε ένα ζωικό μοντέλο TBI [44]. Σύμφωνα με μια μελέτη ανάλυσης κινδύνου, η κατανάλωση καφέ στην ηλικία των σαράντα ετών μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου Αλτσχάιμερ αργότερα στη ζωή, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο καφές έχει νευροπροστατευτικά χαρακτηριστικά. Τα NPs του καφέ μπορούν να απομονωθούν βράζοντας τον καφέ σε νερό, φιλτράροντάς τον για την απομάκρυνση ελαίου και των μεγάλων σωματιδίων και στη συνέχεια με τη χρήση υπερήχων [45]. Η θεραπεία με νανοκαφέ βελτιώνει τα χαρακτηριστικά συμπεριφοράς και σταθεροποιεί τα επίπεδα της κινάσης της συνθάσης του γλυκογόνου-3 (glycogen synthase kinase-3 - GSK-3) και της πολυμεράσης της πολυ (ADP-ριβόζης), μόρια τα οποία είναι σημαντικοί δείκτες απόπτωσης και κυτταρικής βλάβης σε μοντέλο ποντικών με TBI [45]. Συμπερασματικά, μειώνοντας την απόπτωση, τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες, τα ΝΣ παρέχουν μια χρήσιμη επιλογή για τη μεταφορά φαρμάκων και τη μείωση της εγκεφαλικής βλάβης που σχετίζεται με την TBI.

Ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (Ischemic stroke - IS)

Το εγκεφαλικό επεισόδιο αποτελεί κύρια αιτία θνησιμότητας και αναπηρίας στον κόσμο. Το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι το πιο διαδεδομένο είδος εγκεφαλικού επεισοδίου, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 79 % όλων των καταγεγραμμένων περιπτώσεων εγκεφαλικού επεισοδίου το 2017 [46]. Το 2016, οι ενήλικες ηλικίας 44 έως 70 ετών αντιπροσώπευαν περίπου το 53% των νέων περιπτώσεων ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου που καταγράφηκαν [47]. Η διαταραχή ορίζεται ως απόφραξη αιμοφόρων αγγείων του εγκεφάλου και προκαλείται από θρόμβο αίματος ή συσσώρευση λίπους. Η εξέλιξη της νόσου συνδέεται με πολυάριθμους μηχανισμούς, όπως το μηχανισμό της διεγερτοτοξικότητας, του οξειδωτικού στρες και της φλεγμονής, οι οποίοι βλάπτουν τα κύτταρα και τους ιστούς. Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη, ΝΣ σεληνίου (Se) μπορούν να καταστείλουν αποτελεσματικά τις νευροεκφυλιστικές ιδιότητες ρυθμίζοντας την αυτοφαγία, τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες μέσω της αύξησης της σχετιζόμενης με Unc-51 αυτοφαγίας, ενεργοποιώντας την κινάση-1 και την πρωτεΐνη Wnt3a, και καταστέλλοντας τα μονοπάτια Jack2/Stat3 και mTORC1 (δημιουργία όγκων) σε μοντέλα ποντικού με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο [48]. Πρόσθετη μελέτη διαπίστωσε ότι τα ΝΣ βετουλινικού οξέος (betulinic ΝΣ) προάγουν τη μεταφορά της γλιβενκλαμίδης στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, οδηγώντας σε μείωση του οιδήματος και αυξημένη αντιοξειδωτική δράση σε ποντίκια με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο [49]. Επιπλέον, βρέθηκε ότι τα συζευγμένα με AMB3100, συρρικνούμενα σε μέγεθος, ΝΣ βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα της κατανομής της γλιβενκλαμίδης και ελαχιστοποιούν την τοξικότητα [50]. Επιπλέον, στο μοντέλο του ποντικού με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση ΝPs πολυϋδροξυλιωμένου φουλερενίου μπορεί να

μειώσει σημαντικά την εγκεφαλική βλάβη μέσω της βελτίωσης της αντιοξειδωτικής κατάστασης και της περιεκτικότητας σε νιτρικό [51]. Η προστατευτική επίδραση των ΝΣ φουλερενίου συνδέεται επίσης με τη μείωση της πρωτεΐνης ακουαπορίνης 1 (aquaporin-1), η οποία αναστέλλει το οίδημα [52]. Η θεραπεία του μοντέλου αρουραίου με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο με ΝPs μελανίνης έχει επίσης αποδειχθεί ότι μειώνει σημαντικά την εγκεφαλική βλάβη που προκαλείται από ROS και δραστικά μόρια αζώτου (RNS). Επίσης διαπιστώθηκε ότι λιποσωμικά ΝPs φορτωμένα με οξικά άλατα μπορούν να μειώσουν σημαντικά τη μικρογλοιακή διέγερση και τη χρόνια φλεγμονή χωρίς να επηρεάζουν τις διαδικασίες οξειδωτικού στρες, απόπτωσης ή νευρογένεσης. Συνολικά, η έρευνα υποδηλώνει ότι τα ΝΣ μπορούν να βοηθήσουν στη θεραπεία του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, δρώντας ως φορέας μεταφοράς φαρμάκων και μεταβάλλοντας άμεσα τη διαδικασία ανάπτυξης της νόσου.

Αμνησία

Η απώλεια μνήμης είναι σύμπτωμα της αμνησίας, η οποία μπορεί να προκληθεί από εγκεφαλικές διαταραχές ή τραυματισμούς. Η κατάχρηση ουσιών, η τοξικότητα, οι εγκεφαλικές παθήσεις, οι τραυματισμοί στο κεφάλι και η απώλεια αίματος αποτελούν κοινούς παράγοντες κινδύνου για αμνησία [53]. Προς το παρόν δεν υπάρχουν διαθέσιμες φαρμακευτικές θεραπείες για την ασθένεια. Η θεραπεία της αμνησίας, όπως και άλλων εγκεφαλικών ασθενειών, περιπλέκεται από τους προστατευτικούς μηχανισμούς του εγκεφάλου στα φάρμακα. Σε ένα μοντέλο ποντικού με αμνησία που προκαλείται από σκοπολαμίνη (scopolamine - SC), η θεραπεία με ριβαστιγμίνη χιτοζάνης (CS) με επικάλυψη PS-80 (PS-80-coated rivastigmine CS ΝΣ) οδήγησε σε σημαντική βελτίωση του ρυθμού ανάκτησης της

μνήμης [54]. Παρομοίως, σε μοντέλα ποντικών με αμνησία, PBCA ΝΣ με αυξητικό παράγοντα νεύρων και τροποποιημένα με PS-80 μείωσαν την αμνησία και αύξησαν την αντίληψη [55]. Επιπλέον, σε ένα ζωικό μοντέλο αμνησίας, η θεραπεία με θειολωμένα CS ΝΣ φορτωμένα με γαλανταμίνη μπορεί να διορθώσει τα ελλείμματα μνήμης [56]. Ωστόσο, σε σύγκριση με τη χορήγηση των αντίστοιχων καθαρών φαρμακευτικών ουσιών τους, τα φορτωμένα με γαλλικό οξύ CS ΝΣ επικαλυμμένα με PS-80 και τα ZnO ΝΣ δεν παρουσιάζουν ουσιαστική βελτίωση στην απώλεια μνήμης που προκαλείται από τη θεραπεία SC σε ποντίκια- ωστόσο, αυτά τα ΝΣ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ενίσχυση της μεταφοράς στον εγκέφαλο μελλοντικών φαρμάκων. Τα ΝΣ έχουν ενισχυμένη αποτελεσματικότητα στη μεταφορά φαρμάκων γενικά- ωστόσο, απαιτείται περισσότερη έρευνα σχετικά με τον αντίκτυπό τους στη θεραπεία της αμνησίας.

Διαταραχή του φάσματος του αυτισμού (Autism spectrum disorder - ASD)

Η ASD είναι μια αναπτυξιακή διαταραχή που διακρίνεται από δυσκολίες στη συμπεριφορά και την επικοινωνία. Οι ασθενείς με ASD παρουσιάζουν περιορισμένα και επαναλαμβανόμενα πρότυπα συμπεριφοράς και ενδιαφέροντα, καθώς και φτωχές επικοινωνιακές δεξιότητες [57]. Τα συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται στην πρώιμη παιδική ηλικία και συνεχίζονται στην ενήλικη ζωή- ωστόσο, με τη σωστή βοήθεια και τις κατάλληλες θεραπείες, ορισμένα ζητήματα μπορούν να βελτιωθούν [58].

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το 1/59 των παιδιών ηλικίας 8 ετών πάσχουν από τη νόσο [59]. Η συχνότητα της ASD έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνεται στη Νορβηγία, με το μεγαλύτερο αντίκτυπο να παρουσιάζεται σε παιδιά προσχολικής ηλικίας έως 5 ετών

σε σύγκριση με μαθητές ηλικίας 6-16 ετών [60]. Παρά την απουσία παγκόσμιων δεδομένων, απαιτούνται επείγοντως νέες θεραπευτικές επιλογές για την πάθηση. Η θεραπεία με νανο-εσπερετίνη (Nano-hesperetin) αποκατέστησε τα ελλείμματα συμπεριφοράς και περιόρισε τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες σε ζώα με ASD, το οποίο προκλήθηκε από βαλπροϊκό οξύ. Από την άλλη πλευρά, η προγεννητική θεραπεία ποντικών με ΝΣ διοξειδίου του τιτανίου (TiO_2) προκαλεί διαταραχές συμπεριφοράς που μοιάζουν με ASD στους απογόνους, παρόλο που η ένωση δεν έχει γνωστές επιδράσεις στον οργανισμό [61]. Συνοπτικά, τα προαναφερθέντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα ΝΣ έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν φάρμακα- ωστόσο, απαιτείται περισσότερη έρευνα για να αναλυθούν και οι πιθανές αρνητικές τους επιδράσεις.

Αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)

Η ALS είναι ένα σύνολο εκφυλιστικών διαταραχών που στοχεύουν στους νευρώνες, οι οποίες προσβάλλουν το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και προκαλούν δυσλειτουργία της κίνησης και παράλυση. Η νόσος προσβάλλει κυρίως παιδιά ηλικίας 2 έως 5 ετών, ενώ η πλειονότητα των θανάτων επέρχεται εντός 5 ετών ως αποτέλεσμα αναπνευστικής παράλυσης [62]. Προς το παρόν δεν υπάρχουν θεραπείες για τη νόσο. Οι ασθενείς με ALS παρουσιάζουν υψηλότερο ποσοστό οξειδωτικού στρες [63], νευροτοξικότητας [64] και φλεγμονής σε σχέση με τους υγιείς ανθρώπους [65]. Η θεραπεία με CeO_2 ΝΣ έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει τη μυϊκή δραστηριότητα και τη διάρκεια ζωής των ζωικών μοντέλων με ALS, μειώνοντας τις βλάβες που προκαλούνται από το οξειδωτικό στρες [66]. Σε ένα ζωικό μοντέλο ALS, η θεραπεία με Au ΝΣ φορτωμένα με έναν αναστολέα του παράγοντα υποξί-

ας FM19G11 αποδείχθηκε ότι αυξάνει τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των επιδερμικών βλαστικών προγονικών κυττάρων αναπτύσσοντας τα σχετικά γονίδια. Επιπλέον, μέσω της διέγερσης του συστήματος σηματοδότησης ρετινοειδών, η θεραπεία με ΝΣ πολυ(γαλακτικού οξέος)-πολυ(αιθυλενογλυκόλης) φορτωμένα με ανταπαλένη (adapalene) παράγει νευροπροστασία και βελτιώνει την επιβίωση και την κινητική λειτουργία σε ποντίκια με ALS [67]. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα ΝΣ θα μπορούσαν να βελτιώσουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα και τη μεταφορά των φαρμάκων εναντίον του ALS.

Νόσος Alzheimer (Alzheimer's disease - AD)

Η νόσος του Alzheimer είναι ένας τύπος άνοιας που χαρακτηρίζεται από την προοδευτική καταστροφή των νευρώνων λόγω της γήρανσης, με αποτέλεσμα τη μείωση της γνωστικής ικανότητας και άλλα νευροπαθολογικά χαρακτηριστικά. Σύμφωνα με έρευνα του 2016, τουλάχιστον ένα άτομο στην Αμερική αναπτύσσει νόσο Alzheimer κάθε 66 δευτερόλεπτα και ο αριθμός αυτός προβλέπεται να αυξηθεί δραματικά τα επόμενα χρόνια. Η συσσώρευση της πρωτεΐνης Tau είναι μία από τις παθογενετικές πτυχές που συνδέονται με την πορεία νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως η νόσος του Alzheimer [68,69]. Τα ΝΣ από σουλφιδίο καδμίου και οξειδίου του σιδήρου (iron oxide) ΙΟ καλλυμμένα με πρωτεΐνη μπορούν να αποτρέψουν αποτελεσματικά τον πολυμερισμό και την ινιδίωση των πρωτεϊνών Tau, σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη, με ποσοστά αναστολής 63 και 49% αντίστοιχα [70]. Ένα άλλο εκφυλιστικό χαρακτηριστικό γνώρισμα της νόσου του Alzheimer είναι η συσσώρευση της Ab, η οποία προκαλεί μείωση της ικανότητας δέσμησης της Ab και ανάπτυξη πλάκας. Η GSK-3 είναι μια κίνηση σερίνης/θρεονίνης που έχει συνδεθεί με τη σύνθε-

ση της Ab και την υπερφωσφορυλίωση των πρωτεϊνών Tau, καθώς και με την εξέλιξη της νόσου Alzheimer. Περαιτέρω δεδομένα υποδηλώνουν ότι η GSK-3 ρυθμίζει τη νευρωνική δραστηριότητα σε συνεργασία με αποακετυλάσες ιστονών (histone deacetylase - HDAC). Οι αναστολείς της GSK-3 και της HDAC, από την άλλη πλευρά, έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικοί στη θεραπεία της νόσου του Alzheimer [71-73]. Σε ένα μοντέλο ποντικού, η φόρτωση νικοτιναμιδίου, ενός αναστολέα της HDAC, σε ΝΣ στερεού λιπιδίου (SL) μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τη γνωστική εξασθένηση που σχετίζεται με την AD μειώνοντας τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης Tau [74]. Από την άλλη πλευρά, η θεραπεία ποντικών 5XFAD με ΝΣ PLGA φορτωμένα με πρωτεΐνη δέσμησης βιταμίνης D μειώνει τη γνωστική εξασθένηση εμποδίζοντας τη δέσμηση και τη συσσώρευση της Ab. Σε ένα μοντέλο αρουραίου με νόσο Alzheimer, έχει αποδειχθεί ότι τα Au ΝΣ έχουν κυτταροπροστατευτικά οφέλη ενεργοποιώντας αντιφλεγμονώδεις αποκρίσεις και ενισχύοντας την αντιοξειδωτική κατάσταση. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα επιφανειακά επικαλυμμένα Au ΝΣ αναστέλλουν τη συσσώρευση της Ab, με την επίδραση να ποικίλλει ανάλογα με τη διάμετρο και τη χημεία της επιφάνειας των ΝΣ [75]. Σε ένα μοντέλο της νόσου του Alzheimer, τα Au ΝΣ με αρνητικό επιφανειακό δυναμικό βρέθηκε ότι αναστέλλουν δραστικά την ινιδίωση του Ab και τη σχετική νευροτοξικότητα [76]. Επιπλέον, μια πρόσφατη μελέτη αποκαλύπτει ότι μικρότερα ΝΣ Au είναι πιο αποτελεσματικά από τα μεγαλύτερα ΝΣ στη μείωση της ινιδίωσης του Ab. Τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα ΝΣ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αποτελεσματικότερη και αποδοτικότερη χορήγηση φαρμάκων που στοχεύουν πεπτίδια που δυσρυθμίζονται στη νόσο του Alzheimer, όπως η Ab.

Νόσος του Πάρκινσον (Parkinson's disease - PD)

Η νόσος του Πάρκινσον είναι ένας από τους πιο κοινούς τύπους νευροεκφυλιστικών διαταραχών με υψηλό επιπολασμό σε ενήλικες άνω των 50 ετών. Τα δεδομένα δείχνουν ότι περισσότερα από 6,1 εκατομμύρια άτομα έπασχαν από νόσο του Πάρκινσον το 2016, δηλαδή αύξηση κατά 2,4 φορές σε σχέση με το 1990 [77]. Η νόσος χαρακτηρίζεται από την απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων της μέλαινας ουσίας (substantia nigra) και το σχηματισμό σωμάτων Lewy (Lewy bodies - Lbs). Όσον αφορά τη συμπτωματολογία, η νόσος του Πάρκινσον χαρακτηρίζεται από κινητικές και μη κινητικές διαταραχές. Τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου. Τα LBs περιλαμβάνουν συσσωματώματα α-συνουκλεΐνης (α-synuclein), τα οποία βοηθούν στην ανάπτυξη της νόσου διευκολύνοντας την απώλεια νευρώνων και την ευαισθησία στο στρες [78]. Η α-συνουκλεΐνη διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη δημιουργία φλεγμονής κατά την απόπτωση [79] και στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης των νευρικών βλαστικών κυττάρων [79]. Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη, η α-συνουκλεΐνη εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο πλάσμα και στον ορό των ασθενών με νόσο του Πάρκινσον σε σύγκριση με τους υγιείς, γεγονός που σημαίνει ότι η πρωτεΐνη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικός δείκτης για την πάθηση [80]. Όσον αφορά τα ΝΣ, έχει αναφερθεί ότι η θεραπευτική χορήγηση μαγνητικών ΝΣ οξειδίου του σιδήρου (ΙΟ) επικαλυμμένων με ολεϊκό οξύ που φέρουν στο εσωτερικό τους RNA κοντής φουρκέτας έναντι της α-συνουκλεΐνης, μπορεί να βελτιώσει αποτελεσματικά την κινητική δυσλειτουργία σε PD ποντίκια αντιστρέφοντας την επαγόμενη από την α-συνουκλεΐνη αύξηση των αποπτωτικών δεικτών της πρωτεΐνης X που σχετίζονται με τη Bcl-2 και την p53, καθώς και την καταστολή της έκφρασης της πρωτεΐνης λεμφώματος 2

των κυττάρων (Bcl-2) [81]. Φορτωμένα πολυμερικά ΝΣ με microRNA-124 είναι επίσης χρήσιμα στη θεραπεία των κινητικών διαταραχών και στη μείωση των συμπτωμάτων της νόσου, σύμφωνα με μία μελέτη [82]. Επιπλέον, σε σύγκριση με τις μεμονωμένες θεραπείες, η θεραπεία με ΝΣ χηλικού σιδήρου (Fe) τροποποιημένα με αμφιπολική πολυ(2-μεθακρυλοξυαιθυλο) φωσφορυλοχολίνη και του μεταγραφικού παράγοντα του HIV-1 (HIV-1-transactivating transcription factor) για την επιβράδυνση του κορεσμού στο αίμα και την αύξηση της διάρκειας ζωής *in vivo*, μπορεί να αντιστρέψει πιο αποτελεσματικά τα συμπτώματα της PD [83]. Η θεραπεία με Au ΝΣ ενός μοντέλου ποντικών με PD που προκλήθηκε από αλκαλική ρεζερπίνη βελτιώνει σημαντικά την αντιοξειδωτική κατάσταση και τη νευρωνική επιβίωση [84]. Επιπλέον, σε σύγκριση με τη χορήγηση καθαρής λεβοντόπα (L-DOPA), ενός βασικού φαρμάκου που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της PD, η θεραπεία ενός μοντέλου ποντικού με PD με νανο-ντοπαμίνη βελτιώνει τα κινητικά προβλήματα, ενώ έχει χαμηλή τοξικότητα [85]. Παρομοίως, τα φορτωμένα με μεταφορμίνη ΝPs πολυντοπαμίνης διαθέτουν αντιφλεγμονώδεις, αντιαποπτωτικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες που συνδέονται με την πρωτεολυτική αποικοδόμηση της φωσφορυλιωμένης σερίνης 129 της πρωτεΐνης α-συνουκλεΐνης, γεγονός που προκαλείται από την εξειδικευμένη στόχευση του ενζύμου μεθυλοτρανσφεράση της λυσίνης των ιστονών - γνωστού και ως ενισχυτή του zeste homolog 2 (enhancer of zeste homolog 2 - EZH2) [86]. Νανογαλακτώματα ναρινγκενίνης με βιταμίνη E (Vitamin E-loaded naringenin nanoemulsions), τα ΝΣ CS με σελεγγιλίνη, συνδυασμένα ΝΣ βορνεόλης και λακτοφερρίνης, ΝΣ ρεσβερατρόλης και ΝΣ δημητρίου (cerium) είναι μερικά από τα ΝΣ και τα νανοφάρμακα που έχουν χρησιμοποιηθεί. Συμπερασματικά, όσον αφορά στη ρύθμιση της φλεγμονής, του οξειδωτικού στρες, της απόπτωσης, των δραστηριοτήτων

της α -συνουκλείνης και των επακόλουθων συνεπειών στις κινητικές και μη κινητικές δυσλειτουργίες, τα ΝΣ και τα νανοφάρμακα παρουσιάζουν τεράστιες δυνατότητες στη θεραπεία της PD.

Νόσος Huntington (Huntington disease - HD)

Η νόσος Huntington είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική ασθένεια με κινητικά, γνωστικά και διανοητικά συμπτώματα που προκαλείται από ένα αυτοσωμικό επικρατές γονίδιο. Η πάθηση προκαλείται από μια μετάλλαξη στο γονίδιο Huntington (HTT) που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη huntingtin, η οποία έχει ως συνέπεια την επέκταση των πολυγλουταμινικών επαναλήψεων στο εξόνιο 1, και η οποία προκαλεί μετα-μεταφραστικές λειτουργικές ανωμαλίες στην παραγόμενη πρωτεΐνη [87]. Η φλεγμονή, το οξειδωτικό στρες, η διεγερτοτοξικότητα (excitotoxicity) και η γονιδιακή απορρύθμιση έχουν αναγνωριστεί ως κύριοι μοριακοί μηχανισμοί που συνδέονται με την εξέλιξη της νόσου σε ασθενείς και ζωικά μοντέλα. Σημαντική μείωση του σεληνίου (Se), ενός σημαντικού μετάλλου με προστατευτικές ιδιότητες έναντι της κυτταροτοξικότητας και της οξειδω-αναγωγικής ανισορροπίας, έχει βρεθεί σε αυτοψίες εγκεφάλου ασθενών με HD [88]. Αντίθετα, μια πρόσφατη μελέτη διαπίστωσε ότι το Se, ο σίδηρος και το χρώμιο είναι μεταξύ των απαραίτητων συστατικών που είναι σημαντικά υψηλότερα στα δείγματα αίματος των ασθενών με HD σε σύγκριση με τους υγιείς [89]. Η θεραπεία με χαμηλές δόσεις ΝΣ Se βελτιώνει την οξειδωτική κατάσταση και αναστέλλει τη συσσώρευση της πρωτεΐνης huntingtin σε σκώληκες *Caenorhabditis*, γεγονός που υποδηλώνει την προοπτική του συγκεκριμένου μορίου στη θεραπεία της HD. Παρομοίως, η έρευνα δείχνει ότι τα ΝΣ TiO_2 μπορούν να επιταχύνουν την οξείδωση της μεθειονίνης στη Ν-τελική περιοχή της πρωτεΐνης huntingtin,

δημιουργώντας ένα σουλφοξειδίο, εμποδίζοντας τη συσσώρευση της πρωτεΐνης [90]. Σε ένα μοντέλο ποντικού, η ενσωμάτωση θυμοκινόνης σε SL ΝΣ επιβραδύνει σημαντικά την εξέλιξη της HD ενισχύοντας τη δραστηριότητα των ενζύμων ATPase και μειώνοντας τη δημιουργία φλεγμονής δεικτών και την πυρηνική μετατόπιση του φωσφορυλιωμένου πυρηνικού παράγοντα κάππα Β (nuclear factor kappa B - NF- κ B) [91]. Επιπλέον, η ενθυλάκωση αναστολέων της συσσώρευσης πολυγλουταμικού, που βασίζονται σε πεπτίδια, σε PLGA ΝΣ μπορεί να βελτιώσει την προστατευτική δράση τους σε κυτταρικά μοντέλα Neuro 2a και PC12, καθώς και τη βιοσυμβατότητά τους σε ένα μοντέλο HD της *Drosophila*. Τα ΝΣ πολυ(τρεχαλόζης) έχουν επίσης αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην πρόληψη της εξέλιξης της HD τόσο σε νευρωνικά κύτταρα όσο και σε ποντίκια, μειώνοντας τη συσσώρευση της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης huntingtin. Στο ζωικό μοντέλο της νόσου έχουν επίσης παρατηρηθεί μεταβολές στο μεταβολισμό της χοληστερόλης. Η HD σχετίζεται με μεταβολές στα επίπεδα της 24S-υδροξυχοληστερόλης, ενός κρίσιμου μεταβολίτη της χοληστερόλης που παράγεται κατά την αντίδραση υδροξυλίωσης της με τη μεσολάβηση της 24-υδρολάσης της χοληστερόλης [92]. Σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη, η αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου είναι κρίσιμη για τη θεραπεία της νόσου, διότι διευκολύνει την αποικοδόμηση των συσσωματωμάτων της μεταλλαγμένης huntingtin μέσω της δράσης των πρωτεασωμάτων και της αυτοφαγίας. Επιπλέον, η έρευνα δείχνει ότι η θεραπεία ποντικών με HD, με πολυμερικά ΝΣ τα οποία είναι τροποποιημένα με γλυκοπεπτίδια, που φέρουν χοληστερόλη, μπορεί να αποκαταστήσει τις διαταραχές στη συμπεριφορά και τα γνωστικά τους ελλείμματα [93]. Μία από τις μελέτες [94] διαπίστωσε ότι λιποσωμικά ΝΣ είναι αποτελεσματικά στη μεταφορά χοληστερόλης μέσω αυτής της οδού σε ένα

μοντέλο ποντικού με HD, αποδεικνύοντας τη χρησιμότητά τους στη θεραπεία της HD. Συνοπτικά, τα στοιχεία που παρουσιάστηκαν παραπάνω υποστηρίζουν τη νευροπροστατευτική επίδραση των NPs και τις δυνατότητές τους στη θεραπεία της HD, εστιάζοντας σε κρίσιμες διεργασίες που εμπλέκονται στην εξέλιξη της νόσου.

Πολλαπλή σκλήρυνση (Σκλήρυνση κατά πλάκας) ή διάχυτη εγκεφαλομυελίτιδα (Multiple sclerosis MS)

Η πολλαπλή σκλήρυνση (σκλήρυνση κατά πλάκας) (ΣΚΠ) είναι μια νευρολογική πάθηση του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) που προσβάλλει σχετικά συχνά νεαρούς ενήλικες. Περισσότερα από 2,2 εκατομμύρια άτομα έχουν προσβληθεί από τη νόσο παγκοσμίως και η συχνότητά της έχει αυξηθεί δραματικά σε αρκετές περιοχές. Προς το παρόν δεν υπάρχει θεραπεία για την πάθηση- ωστόσο, χρησιμοποιούνται διάφορα φάρμακα για τη θεραπεία/μείωση και επιβράδυνση εκδήλωσης ή/και των συμπτωμάτων της νόσου, ιδίως στα αρχικά στάδια. Η απομυελίνωση του φλοιού και η φλεγμονή των μηνίγγων είναι τα βασικά συμπτώματα της νόσου που εντοπίζονται στα πρώιμα στάδια της νόσου [95,96]. Πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι τα ΝΣ SL και CS μπορούν δυνητικά να ενισχύσουν τη βιοδιαθεσιμότητα και τις νευροπροστατευτικές επιδράσεις του φουμαρικού διμεθυλεστέρα, ενός φαρμάκου για την υποτροπιάζουσα σκλήρυνση κατά πλάκας. Τα γλυκοκορτικοειδή και τα υβριδικά ανόργανα-οργανικά ΝΣ, σύμφωνα με άλλη μελέτη, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία της ΣΚΠ [97]. Επιπλέον, σε ένα μοντέλο ποντικού με ΣΚΠ, η ενθυλάκωση χονδροϊτινάσης ABC 1 σε πορώδη ΝΣ πυριτίου αποτρέπει τη βλάβη των νευρώνων επιτρέποντας την επαναμυελίνωση [98]. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι τα νανοσωματίδια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την

ενίσχυση της αποτελεσματικότητας και της βιοδιαθεσιμότητας των μελλοντικών θεραπειών της ΣΚΠ.

Επιληψία

Σύμφωνα με τον Διεθνή Σύνδεσμο κατά της Επιληψίας (International League Against Epilepsy), η επιληψία είναι μία νόσος του εγκεφάλου και ορίζεται ως α) δύο πρόκλητες ή αντανakλαστικές κρίσεις που συμβαίνουν με διαφορά 24 ωρών μεταξύ τους, β) μία πρόκλητη/ αντανakλαστική κρίση και 60% πιθανότητα εμφάνισης περαιτέρω κρίσεων εντός των επόμενων 10 ετών μετά από δύο πρόκλητες κρίσεις και γ) διάγνωση συνδρόμων επιληψίας [99]. Η πάθηση μπορεί να προσβάλλει άτομα κάθε ηλικίας, αλλά είναι συχνότερη στα παιδιά και στους ενήλικες. Η ενεργοποίηση των αστροκυττάρων και της μικρογλοίας είναι κρίσιμη για την εξέλιξη της νόσου. Η χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα και η μεταφορά φαρμάκων στον εγκέφαλο έχουν καταστήσει δύσκολη τη θεραπεία της επιληψίας. Η ικανότητα της κουρκουμίνης να μειώνει τη γνωστική εξασθένηση και την ενεργοποίηση της γλοίας, καθώς και να ενισχύει τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, την έχει καταστήσει πολλά υποσχόμενη για τη θεραπεία της επιληψίας [100]. Η κουρκουμίνη σε συνδυασμό με ΝΣ χιτοζάνης-αλγινικού οξέως-πολυ(βουτυλοκυανοακρυλικό) Poly (butyl cyanoacrylate) -τριφωσφορικού νατρίου αύξησε σημαντικά τις αντίστοιχες επιδράσεις της στον κυτταρικό θάνατο, τις γνωστικές διαταραχές και την ενεργοποίηση της γλοίας σε ένα μοντέλο ποντικού με χρόνια επιληψία, γεγονός που οφείλεται στην αυξημένη διαλυτότητα του συστήματος [101]. Τα SL ΝΣ με κουρκουμίνη μειώνουν την απόπτωση ρυθμίζοντας την ερυθροποιητίνη και την πρωτεΐνη κλωθώ (klotho), μειώνοντας τον παράγοντα νέκρωσης όγκων άλφα (TNFα) και ενεργοποιώντας τη σήμανση P38 MAPK, με αποτέλεσμα τη νευροπροστασία [102,103]. Σε

σύγκριση με ποντίκια που δεν έχουν υποστεί θεραπεία με πιπερίνη, έχει βρεθεί ότι η θεραπεία με ΝΣ CS-STPP πιπερίνη επιβραδύνει σημαντικά την εξέλιξη των επιληπτικών συμπτωμάτων αναστέλλοντας τον κυτταρικό θάνατο και την ενεργοποίηση των αστροκυττάρων [104]. Η θεραπεία ενός μοντέλου επιληπτικών αρουραίων με ΝΣ PBCA επικαλυμμένα με πλουρονικό P85 μειώνει επίσης τη δράση της γλυκοπρωτεΐνης P-gr στην αντίσταση της φαινοτοΐνης και αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητά της, σύμφωνα με μία προηγούμενη μελέτη [105]. Σε ένα μοντέλο επιληψίας αρουραίου που προκαλείται από ισονιαζίδη, η φόρτωση καρβαμαζεπίνης (ένα αντισπασμωδικό φάρμακο που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της επιληψίας) σε NPs PLGA επικαλυμμένα με πολοξαμερές 188 βελτιώνει το αποτέλεσμα της θεραπείας σε σύγκριση με την απευθείας χορήγηση απλού φαρμάκου [106]. Περαιτέρω έρευνα αποκαλύπτει ότι η θεραπεία επιληπτικών ποντικών με ΝΣ Fe_3O_4 -β-κυκλοδεξτρίνης συζευγμένα με κουερσετίνη μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τη θεραπευτική δράση της κουερσετίνης [107]. Τα ευρήματα δείχνουν ότι η σύνδεση αντιεπιληπτικών φαρμάκων με ΝΣ αυξάνει την ευαισθησία και την αποτελεσματικότητά τους.

3.4 Σημασία και χρήση των νανოსωλήνων στην υγειονομική περίθαλψη

Χρήση των νανοςωλήνων άνθρακα στις διαταραχές του ΚΝΣ

Η νανοϊατρική είναι ένας ταχέως αναπτυσσόμενος κλάδος στον οποίο συνθετικά νανოსωματίδια χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση, τη θεραπεία και την πρόληψη ασθενειών όπως τα νευρολογικά προβλήματα. Παρά την εξαιρετική έρευνα στον τομέα της νανοϊατρικής, ο κλάδος αυτός βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο [108,109]. Οι

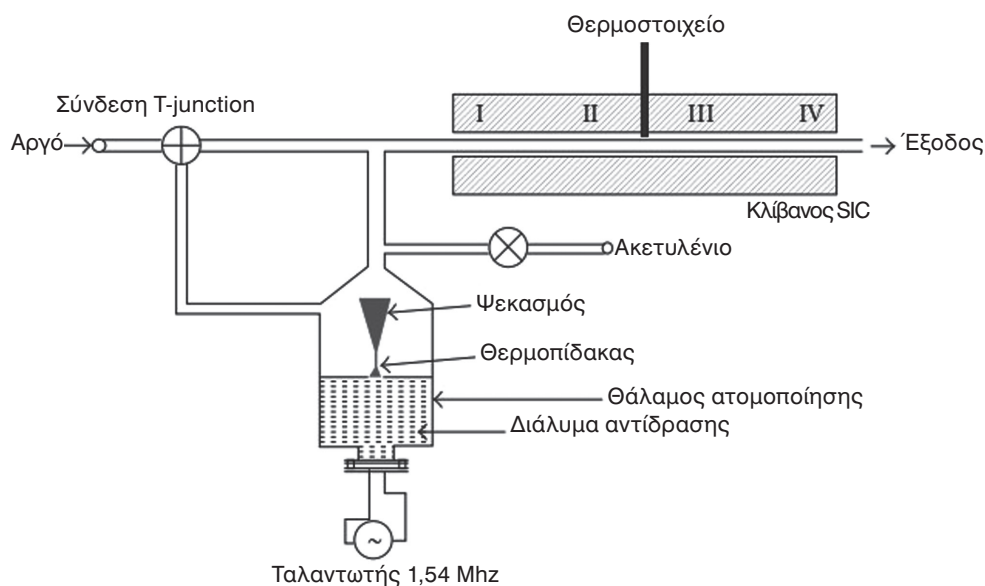
νανοςωλήνες άνθρακα (Carbon nanotubes - CNT) είναι μια σχετικά πρόσφατη κατηγορία νανοϋλικών που φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενα όσον αφορά τη βελτίωση της ιατρικής τεχνολογίας. Προσφέρουν ένα ευρύ φάσμα χαρακτηριστικών που τους καθιστούν χρήσιμους στη νευροβιολογική έρευνα. Οι CNTs ανακαλύφθηκαν από τον Iijima το 1991 [110]. Οι CNTs είναι ηλεκτρικά και θερμικά αγωγιμοί, καθώς και εξαιρετικά ελαφρείς.

Είναι όλκιμοι, ανθεκτικοί και αδρανείς, αλλά ανάλογα με την προοριζόμενη εφαρμογή τους, μπορούν να τροποποιηθούν χημικά με διάφορες λειτουργικές ομάδες. Τα άτομα άνθρακα αποτελούν τη δομική ραχοκοκαλιά των CNT, οι οποίοι έχουν εξαιρετική θερμική και ηλεκτρική αγωγιμότητα καθώς και αντοχή.

Η εναπόθεση χημικών ατμών (Chemical Vapour Deposition - CVD), η εκτομή με λέιζερ και η εκκένωση τόξου [111,112] είναι μερικοί από τους πιο συνηθισμένους τρόπους παραγωγής CNTs.

Λόγω του χαμηλού ρυθμού εναπόθεσης, του χαμηλού κόστους και της δυνατότητας κλιμάκωσής της, η CVD είναι η πλέον κατάλληλη και προτιμώμενη μέθοδος σύνθεσης CNT σε μαζική παραγωγή (όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.2) [113]. Οι CNT είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθούν στη νανοϊατρική επειδή δε διασπείρονται στα περισσότερα υδατικά διαλύματα στη βασική τους κατάσταση. Οι CNT πρέπει να τροποποιηθούν προκειμένου να αυξηθεί η διασπαρτότητά τους σε υδατικές διασπορές και η βιοσυμβατότητά τους για χρήση σε φυσιολογικά συστήματα, όπως το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) [114,115].

Η παρουσία δύο ανατομικών και βιοχημικών δυναμικών φραγμών που διαχωρίζουν το αίμα από το εγκεφαλικό παρέγχυμα, ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (BBB) και ο φραγμός αίματος-εγκεφαλονωτιαίου υγρού (BCSFB), περιορίζει τη μεταφορά φαρμάκων στο νευρικό σύστημα. Αυτοί οι φραγμοί διατηρούν το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) ασφαλές από το κυμαινόμενο περιβάλλον του



Εικόνα 3.2. Σχηματική απεικόνιση σωληνωτού κλίβανου χημικής εναπόθεσης ατμών με νεφελοποιητή. Στο θάλαμο ψεκασμού, ένας καταλύτης συνδυάζεται με μια πρόδρομη ουσία και τα αντιδρώντα στη συνέχεια διοχετεύονται στον κλίβανο με αέριο αργό. Τα νανοσωματίδια του καταλύτη σχηματίζουν θέσεις πυρηνοποίησης για την ανάπτυξη νανοσωλήνων άνθρακα χρησιμοποιώντας ως πηγή το ακετυλένιο. Τα αέρια της αντίδρασης που αναπτύσσονται αποβάλλονται από τον κλίβανο μέσω της εξόδου του αερίου αργού [116,181].

αίματος. Η χορήγηση φαρμάκων στο ΚΝΣ παρεμποδίζεται από αυτά τα εμπόδια, με συνέπεια τη μη αποτελεσματική διάγνωση και θεραπεία διάφορων νευρολογικών ασθενειών [117,118].

Το 1959, ο Feynman είδε τις δυνατότητες της μηχανικής των ατόμων και των μορίων στη νανοκλίμακα. Υποστήριξε ότι τα νανοδομημένα υλικά είχαν μοναδικά φυσικά χαρακτηριστικά που θα μπορούσαν να είναι ωφέλιμα για την ανθρωπότητα [119]. Η νανοτεχνολογία οδηγεί στη δημιουργία και χρήση νανοϋλικών με μοναδικές λειτουργικές δυνατότητες που δεν υπάρχουν σε μεγαλύτερη κλίμακα. Σε μοριακό και υπερμοριακό επίπεδο, τα νανοϋλικά μπορούν να αλληλεπιδρούν με φυσικά συστήματα. Μπορούν να τροποποιηθούν ώστε να ανταποκρίνονται σε ορισμένα κυτταρικά

περιβάλλοντα και να επιτελούν επιθυμητές βιολογικές λειτουργίες σε κύτταρα και ιστούς, ελαχιστοποιώντας παράλληλα τις συνέπειες [109]. Η *in vivo* χρήση των νανοτεχνολογικών τεχνικών και των πλατφορμών CNT, ιδίως για την αναγέννηση νευρικών κυττάρων, βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο, με λίγα μόνο πιλοτικά πειράματα να έχουν ολοκληρωθεί μέχρι στιγμής. Οι CNTs έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία *in vivo* σε οστικά εμφυτεύματα και ως φορείς μεταφοράς φαρμάκων για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της οστεοπόρωσης, καθώς και διάφορων μορφών καρκίνου σε διάφορα όργανα του σώματος. Έχουν γίνει πολύ λίγες προκλινικές έρευνες για την επιτυχή *in vivo* χρήση των CNTs στη νανογέννηση νευρικών κυττάρων και τη νευροπροστασία

[120]. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα, οι ισχυρές μηχανικές ιδιότητες και οι μορφολογικές ομοιότητες με τους νευρίτες έχουν ξεχωρίσει στους CNT [121]. Για το λόγο αυτό, οι CNTs παρουσιάζονται πολλά υποσχόμενοι στη διάγνωση και τη θεραπεία νευρολογικών ασθενειών και ισχαιμίας λόγω των μοναδικών χαρακτηριστικών τους.

3.5 Τοξικότητα των νανοσωλήνων άνθρακα σε ζωντανά κύτταρα και στο νευρικό ιστό

Οι κλινικές μελέτες των νανοσωλήνων άνθρακα για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς μπορούν να ξεκινήσουν μόνο εάν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως η πιθανή τοξικότητά τους στο βιολογικό περιβάλλον [122]. Η τοξικότητα των νανοσωλήνων άνθρακα σε ζωντανά κύτταρα είναι πολυσυζητημένο θέμα αυτή την περίοδο. Οι CNTs έχουν διαφορετικές επιδράσεις σε διαφορετικά κύτταρα, ιστούς και όργανα, καθώς σε ορισμένα κύτταρα έχουν θετική επίδραση ενώ για άλλα μπορεί να είναι επικίνδυνο [123]. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.1, η αποτελεσματικότητα και οι παρενέργειες των CNTs εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από μια σειρά χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένης της δόσης και της μεθόδου χορήγησης των CNTs, του είδους της έκθεσης και του μήκους και της διαμέτρου των CNTs. Χρειάζεται έρευνα για να προσδιοριστεί η μέθοδος με την οποία οι νανοσωλήνες άνθρακα διεισδύουν στα κύτταρα, να εντοπιστεί η θέση τους μετά την απορρόφησή τους και να προσδιοριστούν οι σχετικοί κυτταροτοξικοί μηχανισμοί. Επιπλέον, απαιτείται έρευνα για την επανεξέταση της επίδρασης της νανοτοξικότητας ως αποτέλεσμα φυσικοχημικών χαρακτηριστικών όπως οι προσμίξεις, το μήκος και η διάμετρος, η λειτουργικότητα της επιφάνειας και η ικανότητα διαβροχής των νανοσωλήνων άνθρακα. Η κατάποση, η απορρόφηση από το δέρμα και η εισπνοή είναι οι τρεις πιο διαδεδομένοι τρόποι εισόδου των CNTs

στον οργανισμό. Η ενδορραχιαία χορήγηση, η κοιλιακή εμφύτευση και η ενδοφλέβια έγχυση είναι μερικές από τις άλλες μεθόδους χορήγησης που έχουν εξεταστεί για τη νανοτοξικότητα [124].

Η ενεργητική ενδοκυττάρωση και η παθητική νανοδιείσδυση είναι οι δύο πιο κοινές διαδικασίες με τις οποίες οι λειτουργικοί νανοσωλήνες άνθρακα εισέρχονται στα κύτταρα. Ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης οξειδωτικών μέσων και τοξικών ενζύμων, τα κύτταρα υφίστανται οξειδωτικό στρες κατά την εσωτερίκευση των CNT. Λόγω του σχηματισμού ελευθέρων ριζών και δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) προκαλείται οξειδωτικό στρες. Οι ελεύθερες ρίζες σε περίσσεια προάγουν την υπεροξείδωση των λιπιδίων, τη διάσπαση των πρωτεϊνών και την οξείδωση του DNA. Η απόπτωση, η βλάβη του DNA, η οξείδωση των αμινοξέων και η αναστολή της δράσης των ενζύμων είναι μερικές από τις επιπτώσεις των ROS στα κύτταρα [125]. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια της πρωτεϊνικής κίνησης και του πυρηνικού παράγοντα κάππα Β (NF-κΒ) ως απόκριση στο οξειδωτικό στρες ρυθμίζουν τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και την απόπτωση [126].

Οι νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων (Multiple Walled Carbon Nanotubes - MWCNTs) θα μπορούσαν να πυροδοτήσουν φλεγμονώδεις αντιδράσεις, σύμφωνα με τους Witzmann και Monteiro-Riviere. Ανθρώπινα κερατινοκύτταρα επωάστηκαν με MWCNTs, γεγονός που είχε ως συνέπεια τη μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων και την αύξηση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών [127].

Η βιοσυμβατότητα των CNT με τα κύτταρα του ΚΝΣ έχει ιδιαίτερη σημασία για την επιτυχή χρήση των CNT στον εγκέφαλο. Λόγω των δομικών ομοιοτήτων τους με τον αμίαντο, υπάρχει σημαντική ανησυχία σχετικά με την κυτταροτοξικότητά τους. Επιπλέον, η βιολογική χρήση των CNT απαιτεί τον πλήρη καθαρισμό τους μετά την παραγωγή τους για την απομάκρυνση τόσο των μεταλλικών όσο

Πίνακας 3.1 Καρδιαγγειακές επιδράσεις μετά από έκθεση σε νανοσωληνές άνθρακα. Η τοξικότητα των CNTs επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η δόση, ο τύπος του ζώου, το μέγεθος των CNTs, η τροποποίηση, η διάρκεια έκθεσης και ο τρόπος έκθεσης.

Απόλυτη δόση	Δόση (mg/kg)	Ζώο	Αριθμός	Διάμετρος	Μήκος	Γενικά χαρακτηριστικά		Μορφή χορήγησης	Χρόνος έκθεσης	Επιδράσεις	Είδος
-	0,064	Αρουραίος	8-10	0,9-1,7nm	<1μm	-	-	Μέσω σωλήνα σίτισης	1 Δόση σε 24 ώρες	Τροποποίηση των νουκλεοτιδίων στο DNA του πνεύμονα και του ήπατος	Swcnt
10μg	0,3	Ποντίκι	-	-	-	-	Μη τροποποιημένο	Ενδοτραχειακά	1 Δόση	Καμία σημαντική επίδραση	Swcnt
10μg	0,4	Ποντίκι	-	0,7-1,5nm	<1μm	-	-	Φαρυγγική ενστάλλαξη	1 Δόση σε 60 μέρες	Βλάβη του μιτοχονδριακού dna στην αορτή	Swcnt
-	0,64	Αρουραίος	8-10	0,9-1,7nm	<1μm	-	-	Μέσω σωλήνα σίτισης	1 Δόση σε 24 ώρες	Τροποποίηση των νουκλεοτιδίων στο DNA του πνεύμονα και του ήπατος	Swcnt
-	1	Αρουραίος	8	1,2-1,6nm	2-5nm	-	-	Ενδοτραχειακά	2 Δόσεις σε διάστημα μεγαλύτερο των 4 εβδομάδων	Τροποποίηση των τασεοποδοχέων. επίδραση στο αυτόνομο καρδιαγγειακό έλεγχο	Swcnt
40μg	1,3	Ποντίκι	-	-	-	-	Μη τροποποιημένο	Ενδοτραχειακά	1 Δόση	Αύξηση επιπέδου κρεατινικής κινάσης, εκφυλισμός των καρδιακών ινών	Swcnt

Πίνακας 3.1 Καρδιαγγειακές επιδράσεις μετά από έκθεση σε νανοσωληνές άνθρακα. Η τοξικότητα των CNTs επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος του ζώου, ο τύπος του CNTs, η τροποποίηση, η διάρκεια έκθεσης και ο τρόπος έκθεσης. (συνέχεια)

Απόλυτη δόση	Δόση (mg/kg)	Ζώο	Αριθμός	Διάμετρος	Μήκος	Γενικά χαρακτηριστικά	Μορφή χορήγησης	Χρόνος έκθεσης	Επιδράσεις	Είδος
40μg	1,3	Ποντίκι	-	-	-	Τροποποιημένο με οξύ	Ενδοτραχειακά	1 Δόση	Σημαντική αύξηση του infraction μεγέθους του επιπέδου της κρεατινικής κινάσης, εκφυλισμού των καρδιακών ινών	SWCNT
10μg	1,3	Ποντίκι	-	-	-	Τροποποιημένο με οξύ	Ενδοτραχειακά	1 Δόση	Καμία σημαντική επίδραση	SWCNT
40μg	1,4	Ποντίκι	-	0,7-1,5nm	1μm	-	Φαρυγγική ενστάλλαξη	1 Δόση σε 60 μέρες	Βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA	SWCNT
40μg	1,5	Ποντίκι	-	0,8-1,2nm	0,1-1μm	8,8 Wt% σίδηρο	Φαρυγγική αναφύση	4 Ώρες		SWCNT
10μg	1,5	Ποντίκι	-	80nm	10-20μm	0,2 Wt% σίδηρο	Φαρυγγική αναφύση	4 Ώρες	Τοπική και συστηματική επίδραση στη φλεγμονή	MUCNT
20μg x 4	2,8	Ποντίκι	-	0,7-1,5nm	1μm	-	Φαρυγγική ενστάλλαξη	4 Δόσεις σε 8 εβδομάδων	Αύξηση της αθηροσκλήρωσης σε διαγονιδιακά ποντίκια APOE-/-, σχηματισμός πλάκας στην αορτή, βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA	SWCNT

Ο πίνακας έχει ληφθεί από το άρθρο των Gustavson και συνεργάτες το 2011 [136].

και των ανθρακούχων σωματιδίων που θα μπορούσαν να είναι επιβλαβή για τα κύτταρα και τους ιστούς. Ο Ni και οι συνεργάτες του [128] ήταν οι πρώτοι που έδειξαν ότι, παρά τις μορφολογικές ανωμαλίες, η ζωτικότητα των νευρώνων του ιππόκαμπου παρουσία σύνθετου ενοφθαλμισμένου (graft) συμπολυμερούς - SWCNTs, δεν επηρεάστηκε. Η βιοσυμβατότητα των τροποποιημένων MWCNTs με νευρικά κύτταρα παρουσιάστηκε από τον Gaiiard και τους συνεργάτες του [129]. Οι τροποποιημένοι MWCNTs (Functionalized MWCNTs) δεν είχαν καμία επίδραση στη βιωσιμότητα των κυττάρων ή στη νευρωνική αρχιτεκτονική και η φυσιολογική λειτουργία των πρωτογενών νευρώνων διατηρήθηκε. Η νευροτοξικότητα που προκαλείται από μεταλλικές προσμίξεις κατά την κατασκευή CNT διερευνήθηκε σε μια άλλη μελέτη. Οι προσμίξεις σιδήρου στους MWCNTs ήταν επιβλαβείς για την επιβίωση των κυττάρων και τον κυτταροσκελετό, σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης αυτής. Η ικανότητα των νευρώνων να σχηματίζουν ώριμους νευρίτες παρεμποδίστηκε [130]. Κατά την επώαση νευρωνικών κυττάρων PC12 με SWCNTs, η βιωσιμότητα των κυττάρων μειώθηκε και παρατηρήθηκε αλλοίωση της κυτταρικής μεμβράνης. Το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης ήταν επίσης μειωμένο. Οι SWCNTs προκάλεσαν την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και αύξησαν την υπεροξειδωση των λιπιδίων. Υπήρξε μείωση του επιπέδου της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, της καταλάσης και της γλουταθειόνης (GSH). Η έκθεση σε SWCNT προκάλεσε συμπύκνωση της χρωματίνης, κατακερματισμό των πυρήνων και παρεμπόδιση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M σε κύτταρα PC12 [131]. Η προεπεξεργασία των κυττάρων με βιταμίνη E μετρίασε αυτές τις συνέπειες [132].

Η επικάλυψη των CNTs με επιφανειοδραστικές ουσίες ή πολυμερή όπως το πολυπυρόλιο (PPy) για τον περιορισμό της άμεσης επαφής μεταξύ

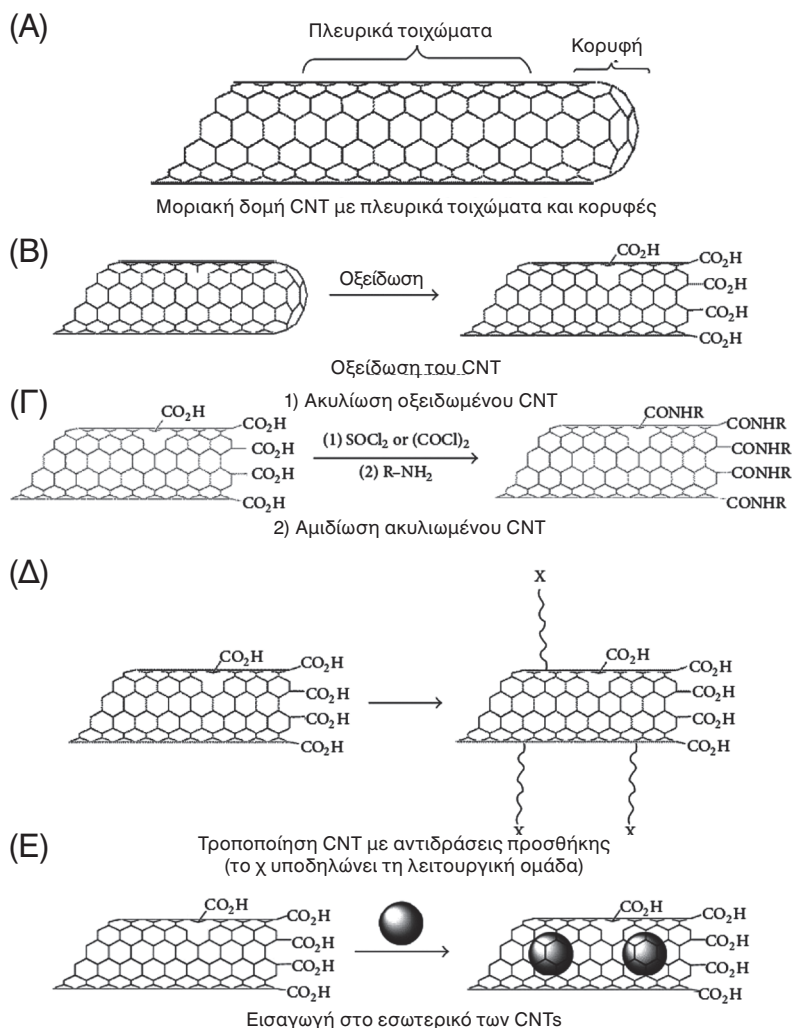
των CNT και των κυττάρων ή των ιστών μπορεί να μειώσει την κυτταροτοξικότητα [133]. Ο Πίνακας 3.1 συνοψίζει πρόσθετες έρευνες σχετικά με την τοξικότητα των νανοσωλήνων άνθρακα. Με βάση τα ευρήματα των τρεχουσών μελετών, είναι αδύνατο να χαρακτηριστούν οριστικά οι CNT ως επιβλαβείς ή όχι σε *in vivo* συστήματα, επειδή οι επιδράσεις τους στα κύτταρα εξαρτώνται ιδιαίτερα από το πεδίο εφαρμογής τους.

Προς το παρόν, είναι εξαιρετικά δύσκολο να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με την τοξικότητα των νανοσωλήνων άνθρακα. Θα πρέπει, ωστόσο, να αντιμετωπίζονται ως τοξικοί έως ότου γίνουν περισσότερες έρευνες και αποσαφηνιστεί πλήρως η τοξική τους δυναμική.

3.6 Νανοσωλήνες άνθρακα με χημικά τροποποιημένες επιφάνειες σε βιοϊατρικές εφαρμογές

Τα νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα έχουν περιορισμένη διασπορά σε οργανικές μήτρες λόγω της χημικής τους αδράνειας και των δυνάμεων van der Waals στην επιφάνειά τους, οι οποίες προκαλούν τη συσσωμάτωσή τους. Ωστόσο, χάρη σε στρατηγικές που αφορούν στην τροποποίησή τους έχει ξεπεραστεί το εμπόδιο αυτό, ενώ έχει βελτιωθεί η βιοσυμβατότητά τους [134]. Η μη ομοιοπολική και η ομοιοπολική είναι δύο μέθοδοι χημικής τροποποίησης των νανοσωλήνων άνθρακα, έτσι ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε φυσιολογικό πλαίσιο [135,136]. Αυτές οι προσεγγίσεις μειώνουν την εγγενή τάση για συσσωμάτωση των CNT, επιτρέποντας τον διαχωρισμό και την ευκολότερη διαχείρισή τους (Εικόνα 3.3).

Οι CNTs επικαλύπτονται με υδρόφιλα μακρομόρια, με τις υδροφοβικές τους ομάδες να συνδέονται με τους CNTs για να προκαλέσουν απωστικές δυνάμεις σε μη ομοιοπολική τροποποίηση. Για την επικάλυψη των CNTs χρησιμοποιούνται επιφανειοδραστικές



Εικόνα 3.3. Οξείδωση και τροποποίηση των CNT. Ο καθαρός (pristine) CNT έχει πλευρικά τοιχώματα και δύο άκρες (Α). Κατά τη διάρκεια της οξείδωσης προσδένονται καρβοξυλικές ομάδες στα πλευρικά τοιχώματα και τις κορυφές (Β).

Οι οξειδωμένοι CNT τροποποιούνται περαιτέρω με αντιδράσεις ακυλίωσης, αμιδίωσης και προσθήκης (Γ και Δ). Στο εσωτερικό των CNT μπορούν να εισαχθούν φάρμακα και ετικέτες φθορισμού (Ε). Αναπαραγωγή με άδεια από τον Prato και τους συνεργάτες του [137,181]. Copyright (2016) American Chemical Society.

ουσίες, πολυμερή, πεπτίδια και μονόκλωνο DNA (ssDNA). Η εύκολη αποκόλληση των μορίων επικάλυψης από τους CNTs αποτελεί μειονέκτημα αυτής της προσέγγισης.

Η ομοιοπολική τροποποίηση περιλαμβάνει χημικές διεργασίες που συνδέουν τη φορτισμένη ομάδα με το σκελετό του CNT, με αποτέλεσμα

τη δημιουργία απωστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των νανοσωλήνων [132,133,135,138]. Η ομοιοπολική τροποποίηση συμβαίνει όταν οι λειτουργικές ομάδες στο πλευρικό τοίχωμα και στην κορυφή του CNT συνδέονται ομοιοπολικά. Η χημική τροποποίηση του πλευρικού τοιχώματος περιλαμβάνει αντιδράσεις 1,3-

διπολικής κυκλοπροσθήκης (1,3- dipolar cycloaddition). Η σύνδεση λειτουργικών αμινο-ομάδων στα πλευρικά τοιχώματα και τις κορυφές των CNT είχε ως αποτέλεσμα τη σύνθεση ενός εξαιρετικά διαλυτού υλικού [136,138]. Αυτή η μέθοδος τροποποίησης είναι αξιόπιστη και αποφεύγει το πρόβλημα της διάσπασης. Η τροποποίηση αποτελεί σημαντικό βήμα για την επίτευξη ομογενούς υδατικής διασποράς, η οποία επιτρέπει την προσαρμογή των CNT σε βιολογικές εφαρμογές [134,135]. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των CNTs, καθώς και το φαρμακοκινητικό τους προφίλ και η δυνατότητα βιοαποικοδόμησής τους, μεταβάλλονται με αυτή την προσέγγιση [138,139]. Προηγουμένως είχε αποδειχθεί ότι οι καθαροί CNT δεν μπορούσαν να αποικοδομηθούν και ότι η παρατεταμένη παρουσία τους στο σώμα προκαλούσε χρόνια φλεγμονή. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η βιοαποικοδόμηση των οξειδωμένων SWCNT λαμβάνει χώρα στα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα, με την ελάχιστη φλεγμονώδη αντίδραση μετά την εισαγωγή CNTs στους πνεύμονες ποντικών [140]. Στα φαγοκύτταρα, η βιοαποικοδόμηση των χημικά τροποποιημένων CNT πραγματοποιείται σε ένα οξειδωτικό περιβάλλον, τόσο σε *in vivo* όσο και σε *ex vivo* πειράματα, όπως έχει αποδειχτεί [134,141]. Με βάση αυτά τα ευρήματα, οι τροποποιημένοι CNT δεν θα πρέπει να θεωρούνται επιβλαβείς. Οι καθαροί CNT (Pristine CNTs) τείνουν να συσσωματώνονται μεταξύ τους και να συσσωρεύονται στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (RES), σε αντίθεση με τους τροποποιημένους [138,142]. Μετά από ενδοφλέβια ένεση διάρκειας 30 λεπτών, τόσο οι καθαροί όσο και οι τροποποιημένοι MWCNTs συσσωρεύτηκαν στο RES, ενώ μόνο οι καθαροί CNTs παρέμειναν στο ήπαρ και τους πνεύμονες για μήνες. Οι τροποποιημένοι νανοσωλήνες άνθρακα (fCNTs) απεκκρίνονταν εύκολα στα ούρα, όπως αποδείχτηκε και από μεταγενέστερες έρευνες [143,144]. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.2, οι διαφορετικές χημικές ομάδες, π.χ. υδρόφοβες,

υδρόφιλες, ουδέτερες και φορτισμένες, έχουν διαφορετικό αποτέλεσμα στη διασπορά των τροποποιημένων CNTs (fCNTs). Οι διαχωρισμένοι fCNTs δεν προκαλούν τις ίδιες φλεγμονώδεις αντιδράσεις όπως οι μη διαχωρισμένοι και καθαροί CNTs και fCNTs. Ο Ji και οι συνεργάτες του [145] και ο Jain και οι συνεργάτες του [146] υπέδειξαν ότι ο βαθμός τροποποίησης έχει επίδραση στην κυτταροτοξικότητα των CNTs. Οι μονοδοσικές ενέσεις καθαρών MWCNTs και μικρού βαθμού τροποποιημένων CNTs προκάλεσαν ηπατική βλάβη σε ποντίκια, η οποία παρατηρήθηκε 7 ημέρες αργότερα. Στη μελέτη των Jain και συνεργατών [146], τα ποντίκια στα οποία χορηγήθηκαν μονοδοσικές ενέσεις CNTs με υψηλό βαθμό τροποποίησης δεν εμφάνισαν κάποια τοξικότητα. Οι μεταλλικές προσμίξεις που συνδέονται με τους CNT κατά τη σύνθεσή τους μπορούν επίσης να προκαλέσουν κυτταροτοξικότητα, η οποία μπορεί να μειωθεί μέσω οξείδωσης των CNT [146]. Για να ξεπεραστούν οι βλαβερές επιδράσεις των CNTs, απαιτούνται χημικές τροποποιήσεις, όπως η οξείδωση και η αμιδίωση, για τη σύζευξη λειτουργικών ομάδων στα CNTs. Επειδή οι συνδεδεμένες λειτουργικές ομάδες στην επιφάνεια των fCNT δεν είναι ομοιογενείς, αυτή η τεχνική μπορεί να είναι ανεπαρκής για βιοϊατρικές εφαρμογές [147,148]. Για την ανάπτυξη σταθερών και με καλή διασπορά συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων, η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) χρησιμοποιείται συνήθως για τη βελτίωση της κυκλοφορίας των CNT στο αίμα. Ο μηχανισμός της επίδρασης της PEGυλίωσης στα CNTs είναι άγνωστος προς το παρόν, ωστόσο η PEG παίζει βασικό ρόλο στη μείωση της δέσμευσης των οψωνινών στους CNTs, γεγονός που οδηγεί σε μείωση της έγκαιρης απομάκρυνσης των CNTs από την κυκλοφορία του αίματος [149]. Όταν πολυμερή όπως η PEG συνδέονται με CNTs, τείνουν να αποκτούν ξεχωριστές ιδιότητες. Σε σύγκριση με τη PEG με σχήμα μανιταριού, μια διαμόρφωση που μοιάζει με βούρτσα

Πίνακας 3.2 Μειωμένη κυτταροτοξικότητα με τροποποιημένους νανοσωληνές άνθρωρακα.

Λειτουργική ομάδα ή δομή	Τοξικολογικές μελέτες	Εφαρμογή	Θέση στόχου
Οξειδωμένοι με οξέα SWCNTs (Acid-oxidized SWCNTs)	Οι μελέτες απόπτωσης δεν έδειξαν εμφανή τοξικότητα στα κύτταρα	Ενδοκυτταρικοί μεταφορείς πρωτεϊνών	Κύτταρα θηλαστικών
Επεξεργασμένα οξέα υδατοδιαλυτοί SWCNTs	Καμία αλλαγή στη βιωσιμότητα των κυττάρων ή στη δομή των λυσοσωμάτων και του κυτταροπλάσματος		Ανθρώπινα μακροφάγα κύτταρα προερχόμενα από μονοκύτταρα
Καθαρισμένοι COOH-SWCNTs	Καμία κυτταροτοξικότητα	Φαρμακολογική	Κύτταρα θηλαστικών σε καλλιέργεια
Οξειδωμένοι υπερβραχείς SWCNTs (Oxidized ultrashort SWCNTs)	Δεν παρουσίασαν κυτταροτοξική επίδραση	Ενδοκυτταρική μεταφορά ολιγονουκλεοτιδικών μορίων	Ανθρώπινα μακροφάγα
CNTs με αμινοτελικά άκρα (Amine-terminated CNTs)	Διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη χωρίς να προκαλούν κυτταροτοξικότητα	Παράδοση αμινοξέων, πεπτιδίων, νουκλεϊκών οξέων ή φαρμάκων	
SWCNT-PL-PEG	Αποσώπηση γονιδίων χωρίς εμφανή κυτταροτοξική επίδραση	Παράδοση SH-μικρού RNA (SH-small interfering RNA)	Ανθρώπινα T κύτταρα
SWCNT-PEG-φάρμακο (SWCNT-PEG-drug)	Μειωμένη τοξική αντίδραση προκαλούμενη από δραστικές ρίζες οξυγόνου και μικρότερη κυτταροτοξικότητα	Μεταφορά φαρμάκων	Νευρωνικά κύτταρα PC12
SWCNT-PEG-σισπλατίνη/δοξορουβικίνη (SWCNT-PEG-cisplatin/doxorubicin)	Αξιοσημείωτη μείωση της κυτταροτοξικότητας	Μεταφορά φαρμάκων και χρήση ως εργαλείο για απεικόνιση	Ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα/ποντίκια
SWCNT-PEG-mAb (ανβ3)	Χωρίς να βλάπτει παρακείμενα φυσιολογικά κύτταρα	Στόχευση καρκινικών κυττάρων	ανβ3 θετικά U87MG κύτταρα (ανβ3 positive U87MG cells)

Πίνακας 3.2 Μειωμένη κυτταροτοξικότητα με τροποποιημένους νανοσωλήνες άνθρακα. (συνέχεια)

Λειτουργική ομάδα ή δομή	Τοξικολογικές μελέτες	Εφαρμογή	Θέση στόχου
SWCNT-PEG	Καμία ένδειξη τοξικότητας για 4 μήνες	Ποντίκια	
MWNT-CS-(PC)	Η χιτοζάνη και το PC μείωσαν τις κυτταροτοξικές επιδράσεις στα φυσιολογικά κύτταρα παρουσιάζοντας ειδική φωτοεπαγόμενη τοξικότητα για τα κακοήγη κύτταρα	Φωτοθερμική θεραπεία (PTT)	Κυτταρικές σειρές MCF-7, HepGcO ₂ , L-O ₂
Πολυοξυμεθυλενική μονοελαϊκή σορβιτάνη (PS80) (Polyoxyethylene sorbitan monooleate CNTs)	Καταστολή της κυτταροτοξικότητας	7	Ανθρώπινα πνευμονικά κύτταρα μεσοθηλιακά (MSTO-211-H)
HMDA-SWCNTs; PDDAchloride-SWCNTs	Αμελητέα κυτταροτοξική επίδραση	Ενδοκυτταρική μεταφορά αρνητικά φορτισμένων βιομορίων	Καρδιακά κύτταρα αρουραίου
SWCNTs με πρωτεΐνες ανθρώπινου ορού	Οι πρωτεΐνες του ορού αίματος τροποποίησαν οδούς κυτταρικής αλληλεπίδρασης των SWCNT και μείωσαν την κυτταροτοξικότητά τους	Βιολογικές εφαρμογές	Ανθρώπινες κυτταρικές σειρές οξείας μονοκυτταρικής λευχαιμίας και ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα σφραλικής φλέβας
SWCNTs με BSA (BSA-dispersed SWCNTs)	Καμία οξεία επιβλαβής κυτταρική επίδραση		Ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα και κύτταρα HeLa
Αλβουμίνη-SWCNTs	Προκλήθηκε παραγωγή κυκλοοξυγενάσης-2 μετριάζοντας την τοξικότητα των SWCNTs		RAW264.7 κυτταρικές σειρές μακροφάγων

Πίνακας 3.2 Μειωμένη κυτταροτοξικότητα με τροποποιημένους νανοσωληνές άνθρακα. (συνέχεια)				
Λειτουργική ομάδα ή δομή	Τοξικολογικές μελέτες	Εφαρμογή	Θέση στόχου	
DNA ενσωματωμένοι MWCNTs	Δεν προκαλεί κυτταροτοξική δράση σε λεμφοκύτταρα	Επιλεκτική θερμική αφαίρεση κακοήθους ιστού in vivo	In vivo	
CNTs τροποποιημένοι με λεκτίνες	Αύξηση της βιωσιμότητας των κυττάρων χωρίς ενδείξεις απόπτωσης	Παραγωγή νανοεμβολίων	Κυτταρική σειρά μακροφάγων J774A MOs	
Φθορίζον σύζευγμα CNT-FITC/ βιοτίνης (Fluorescent CNT-FITC/ biotin conjugate)	Μειωμένη κυτταροτοξικότητα	Συστήματα μεταφοράς	Κύτταρα HL60	
Κατιονικοί fCNTs (Cationic fCNTs)	Μειωμένη κυτταροτοξικότητα in vitro	Μεταφορά φαρμάκων και βιομορίων	Κυτταρικές σειρές CHO, 3T3 fibroblast (νοβλάστες), Jurkat, HL60	
Προσαρμογή από Vardharajula et al. (2012) [152]. Οι MWCNTs με διαφορετικές λειτουργικές ομάδες έχουν διαφορετικές τοξικές επιδράσεις σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων και ζώων.				

όταν συνδέεται με τα SWCNTs μειώνει την ικανότητα κυκλοφορίας των CNT στο αίμα και ενισχύει τη νεφρική κάθαρση και τη σχετική πρόσληψη από τον σπλήνα έναντι του ήπατος [150]. Επιπλέον, η διαδικασία τροποποίησης, η οποία περιλαμβάνει το επίπεδο στο οποίο θα γίνει η τροποποίηση, την πυκνότητα της επιφάνειας και την ομοιογένεια των λειτουργικών ομάδων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επιτυχία της χρήσης των CNT στον τομέα της βιοϊατρικής. Για πρώτη φορά, ο Cirillo και οι συνεργάτες του τροποποίησαν ομοιοπολικά CNT με μια χημική ουσία ιατρικού ενδιαφέροντος, το γαλλικό οξύ [151]. Το γαλλικό οξύ είναι ένα φυσικό αντιοξειδωτικό που έχει αντιαλλεργικές, αντιμεταλλαξιγόνες, αντιφλεγμονώδεις και αντικαρκινογόνες ιδιότητες. Έχει αποδειχθεί ότι οι νανοσωλήνες άνθρακα με γαλλικό οξύ μειώνουν το οξειδωτικό στρες σε βιολογικά συστήματα.

CNTs = νανοσωλήνες άνθρακα, fCNTs = τροποποιημένοι νανοσωλήνες άνθρακα, SWCNTs = νανοσωλήνες άνθρακα ενός τοιχώματος, PL = φωσφολιπίδια, PEG = πολυ(αιθυλενογλυκόλη), mAb = μονοκλωνικό αντίσωμα, MWCNTs = νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων, CS = χιτοζάνη, PC = φυκοκυανίνη, CTAB = βρωμιούχο κετυλοτριμεθυλοαμμώνιο, HMDA = εξαμεθυλενοδιαμίνη (hexamethylene diamine), PDDA = πολυδιαλυλοδιμεθυλοαμμώνιο (polydiallyl dimethyl ammonium), BSA = αλβουμίνη ορού βοοειδών.

Ο Shityakov και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν τη μεταφορά ισοθειοκυανικής φλουορεσκεινης (fluorescein isothiocyanate) FITC-MWCNTs ως σύνθετο μέσω αθάντων μικροαγγειακών ενδοθυλιακών κυττάρων cEND ποντικού χρησιμοποιώντας τη συσκευή Transwell. Τα συσσωματώματα FITC-MWCNT δε φθόριζαν και ανιχνεύτηκαν μόνο στην κυτταρική επιφάνεια, ενώ τα διεσπαρμένα FITC-MWCNT φθόριζαν και βρέθηκαν τόσο ενδοκυτταρικά όσο και στην κυτταρική μεμβράνη [153]. Χρησιμοποιώντας

έναν ισχυρό οξειδωτικό μέσο, όπως το νιτρικό οξύ, οι CNTs μπορούν επίσης να οξειδωθούν, δίνοντας καθαρούς και μικρότερους CNTs. Οι ομάδες καρβοξυλικού οξέος που δημιουργούνται στους νανοσωλήνες άνθρακα επιτρέπουν την περαιτέρω τροποποίησή τους χρησιμοποιώντας ομάδες εστέρα και αμιδίου. Η ικανότητα διασποράς των CNT έχει βελτιωθεί, επιτρέποντας τη χρήση τους σε ένα ευρύτερο φάσμα φυσιολογικών συστημάτων, από την ογκολογική διάγνωση και θεραπεία [145,152,154] έως τις νευροπροσθετικές συσκευές [149-151].

3.7 Νευρομηχανική νανοσωλήνων άνθρακα στο ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και άλλες διαταραχές του ΚΝΣ

Η χρήση νανοσωλήνων άνθρακα σε ικριώματα νευρομηχανικής (neuroengineering scaffolds) είναι μια νέα προσέγγιση. Η ανάπτυξη και η βελτίωση των βιολογικών ικριωμάτων για την ενίσχυση της λειτουργίας του νευρικού ιστού υποβοηθείται σημαντικά από τη μηχανική του νευρικού ιστού (neural tissue engineering) [155]. Η μηχανική του νευρικού ιστού αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή για νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως η αποκατάσταση μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο. Γίνονται πολλές έρευνες σε αυτό το θέμα για να βρεθεί ένα κατάλληλο ικρίωμα για την ανάπτυξη του νευρικού ιστού. Τα ικριώματα από CNT και τα σύνθετα ικριώματα από CNT είναι οι δύο διαθέσιμοι τύποι ικριωμάτων. Ωστόσο, οι περιορισμένοι τρόποι παραγωγής ικριωμάτων με τη δομή που μας ενδιαφέρει αποτελούν σημαντικό εμπόδιο στην ανάπτυξή τους. Τα ικριώματα έχουν το πλεονέκτημα ότι διατηρούν αμετάβλητα τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των CNT. Αν και η έρευνα στον τομέα αυτό βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο, τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι οι CNT αποτελούν το σημαντικότερο υπόστρωμα για την ανάπτυξη

του νευρικού ιστού, βοηθώντας στην αποκατάσταση και την αναγέννηση των τραυματισμένων νευρώνων. Η ενσωμάτωση νανοσωλήνων άνθρακα (CNT) σε ικρίωματα προάγει τη διασύνδεση των νευρώνων με τους CNT, με αποτέλεσμα την ηλεκτρική διέγερση των νευρώνων για την αναδόμηση των νευρωνικών συνδέσεων [156]. Ο Kuzmenko και οι συνεργάτες του [157] επινόησαν μια αποτελεσματική προσέγγιση για την κατασκευή ικριωμάτων για τη μηχανική νευρικού ιστού. Αυτή η τεχνολογία χρησιμοποιεί έναν ανανεώσιμο πόρο ως πρόδρομο υλικό και εκμεταλλεύεται τα πλεονεκτήματα της αρχιτεκτονικής που στηρίζεται σε ηλεκτρονημάτωση για την προσκόλληση και τον πολλαπλασιασμό των εγκεφαλικών κυττάρων. Λόγω της βιοσυμβατότητάς τους και των ηλεκτρομηχανικών τους δυνατοτήτων, οι CNT μπορούν να λειτουργήσουν ως υποστρώματα για την αποτελεσματική επώλωση τραυματισμένων νευρώνων, επειδή μπορούν να ενσωματωθούν στους νευρώνες για να επαναφέρουν τις λειτουργίες τους [109,158]. Η βιοσυμβατότητα των κυττάρων ενδιαφέροντος και των περιβαλλόντων κυττάρων είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού ικριώματος. Οι συγκεντρώσεις των CNT, η καθαρότητα, ο τύπος τροποποίησης και σύνθετα με CNT μελετήθηκαν σε έρευνες βιοσυμβατότητας *in vitro*. Οι δοκιμές βιοσυμβατότητας χρησιμοποιούν διεσπαρμένους CNT που είναι φυσικά εγκλωβισμένοι εντός μιας δομής [159]. Για να βοηθήσουν την ανάπτυξη και την προσκόλληση των κυττάρων, οι CNT μπορούν να τροποποιηθούν με καρβοξυλικές ομάδες, πολυμερή και σάκχαρα. Σε μέσα καλλιέργειας εμπλουτισμένα με παράγοντα νευρικής ανάπτυξης (nerve growth factor), οι τροποποιημένοι με οξύ MWCNTs αποδείχθηκε ότι αυξάνουν την ανάπτυξη νευριτών σε νευρώνες και σε μια κυτταρική σειρά φαιοχρωμοκυττάρων αρουραίου [9]. Το μέγεθος και το σχήμα ενός ικριώματος από νανοσωλήνες άνθρακα μπορεί να

επηρεάσει τις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις με αυτό [160]. Διαφορετικά μοτίβα CNTs μπορούν να ελέγξουν τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων (hMSCs). Οι CNTs με ινωδονεκτίνη διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των hMSCs, ενώ οι καρβοξυλιωμένοι CNTs αναστέλλουν την αύξηση και τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων [160].

Οι CNT που χρησιμοποιούνται σε πολυμερικές ενώσεις για το σχηματισμό ικριωμάτων μπορούν να δημιουργήσουν ετεροδομές. Για την παρασκευή πορώδων πολυμερικών σύνθετων υλικών, οι νανοσωλήνες άνθρακα μπορούν να ενσωματωθούν σε PEG και πολυ (φουμαρικό προπυλένιο) (PPF). Μετά τη διασπορά των νανοσωλήνων άνθρακα, τα πορώδη πολυμερή γίνονται ηλεκτρικά αγωγίμα, γεγονός που μπορεί να διεγείρει την ανάπτυξη των κυττάρων [160]. Αυτά τα σύνθετα υλικά έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την οστική και νευρική αναγέννηση. Το ΚΝΣ των θηλαστικών έχει περιορισμένη ικανότητα αυτόματης αποκατάστασης, γεγονός που καθιστά αναγκαία τη χρήση νευρικών βλαστικών κυττάρων και ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων για την αποκατάσταση της νευρωνικής λειτουργίας μετά από νευροεκφυλιστικές διαταραχές και τραυματισμούς του ΚΝΣ, όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο [161]. Οι κάθετα ευθυγραμμισμένοι CNT μπορούν να αλληλεπιδράσουν καλά με μεσεγχυματικά και νευρικά βλαστικά κύτταρα και η ανάπτυξη σε συστοιχίες μπορεί να είναι επιτυχής [162]. Όταν hMSCs καλλιιεργήθηκαν σε φύλλα CNT, η διαφοροποίηση αυξήθηκε παρουσία φύλλων MWCNT. Επειδή έχει αποδειχθεί ότι οι CNT αυξάνουν την ανάπτυξη των νευρικών βλαστικών κυττάρων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη μεταφορά βλαστικών κυττάρων στο ΚΝΣ για τη θεραπεία του τραυματισμένου νευρικού ιστού σε ασθενείς με εγκεφαλικό επεισόδιο.

Λόγω της μηχανικής τους αντοχής, της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και της ομοιότητάς

τους με τους νευρίτες, οι CNTs έχουν συμβάλει σημαντικά στην επανάσταση της μηχανικής ιστών για την αποκατάσταση τραυματισμένων ιστών [161].

Διερευνήθηκε το προτιμώμενο περιβάλλον ανάπτυξης των νευρικών βλαστικών κυττάρων και ανακαλύφθηκε ότι σε περιβάλλον CNT αναπτύσσονται ταχύτερα από ό,τι σε ένα συμβατικό περιβάλλον πολυουρεθάνης [162]. Αν και οι νανοσωλήνες άνθρακα δεν αποσυντίθενται σε βιολογικό περιβάλλον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εμφυτεύματα για μακροχρόνια παρέμβαση μετά από τραυματισμούς του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού. Η ανάπτυξη των κυττάρων PC12 και των νευρώνων του ιπποκάμπου πάνω σε ανθρακικά νήματα από SWCNTs ήταν αποτελεσματική, αποδεικνύοντας τη βιοσυμβατότητά τους.

Ο Stockwell και οι συνεργάτες του συνδύασαν την επιστήμη των βιοϋλικών και τη βιολογία των βλαστικών κυττάρων στον εγκέφαλο ενός ισχαιμικού ποντικού [163,164]. Η χρήση πολυγλυκολικού οξέος σε ικρίωματα βοηθά στην αποκατάσταση του κατεστραμμένου εγκεφαλικού ιστού παρέχοντας μια πλατφόρμα για την ενσωμάτωση πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων.

Η ανάπτυξη των προγονικών κυττάρων του εγκεφάλου βελτιώθηκε όταν εμποτίστηκαν με CNT. Τα κύτταρα μεταναστεύουν στον τραυματισμένο ιστό στην περιοχή της ισχαιμίας για να επιδιορθώσουν τον κατεστραμμένο ιστό [165]. Σε μοντέλα εγκεφαλικού επεισοδίου, ο συνδυασμός νανοϊνών και βλαστικών κυττάρων αύξησε την αποτελεσματικότητα της αποκατάστασης της νευρικής λειτουργίας. Ο εμποτισμός με νανοϊνες άνθρακα διεγείρει τη διαφοροποίηση των νευρικών βλαστικών κυττάρων μετά από έγχυση σε εγκεφάλους αρουραίων που υπέστησαν εγκεφαλικό επεισόδιο και η θεραπεία αυτή οδήγησε επίσης στη δημιουργία νευρογλοίας [166].

Η ικανότητα των CNTs να προκαλούν τη διαφοροποίηση των νευρικών βλαστικών κυττάρων σε νευρώνες υποδηλώνει ότι θα

μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως όχημα για τη μεταφορά βλαστικών κυττάρων σε κατεστραμμένες περιοχές του εγκεφάλου για τη θεραπεία του εγκεφαλικού επεισοδίου. Οι CNTs έχουν κρίσιμο ρόλο στη θεραπεία των τραυματισμών του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού, σύμφωνα με τον Roman και τους συνεργάτες του [167]. Σε νωτιαίο μυελό αρουραίων με βλάβη στον σπόνδυλο T9, η άμεση έγχυση PEG-SWCNTs φάνηκε να αποκαθιστά τους τραυματισμένους νευρώνες. Η αναγέννηση των νευρώνων και η αναδιαμόρφωση των νευρικών κυκλωμάτων είναι οι δύο βασικές τεχνικές ενίσχυσης της αυτόματης επιδιόρθωσης των διαταραγμένων συνδέσεων στους νευράξονες. Η νευροαναγέννηση, η νευρογένεση, η επανασύνδεση των νευρωνικών δικτύων και η νευροπλαστικότητα αποτελούν προϋποθέσεις για την επιτυχή αναγεννητική μηχανική [168]. Ο Mattson και οι συνεργάτες του ήταν οι πρώτοι που έδειξαν ότι νευρώνες από τον ιππόκαμπο αρουραίου μπορούσαν να αναπτυχθούν σε στρώματα MWCNT τροποποιημένων με 4-υδροξυνοενάλη [169]. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η τροποποίηση της επιφάνειας των CNTs επηρεάζει τα μοτίβα ανάπτυξης των νευριτών, την επιμήκυνσή τους, τη διακλάδωσή τους και τον αριθμό των αυξητικών κώνων (growth cones).

Οι *in vitro* έρευνες προκάλεσαν το ενδιαφέρον για τη μεταφορά αυτής της έρευνας και σε *in vivo* πειράματα προκειμένου να βελτιωθεί η κινητική λειτουργική αποκατάσταση μετά από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο σε αρουραίους ή ποντίκια, δεδομένου ότι οι CNT έχουν την ικανότητα να διεγείρουν την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των νευρώνων. Όταν οι CNT που συνδέθηκαν με νευρωνικά προγονικά κύτταρα εμφυτεύθηκαν στις παθολογικές περιοχές στον εγκέφαλο ενός αρουραίου με εγκεφαλικό επεισόδιο, ο όγκος της κύστης του εγκεφαλικού μειώθηκε και οι νευρωνικοί δείκτες αυξήθηκαν σε σχέση με τα μη θεραπευθέντα νευρωνικά προγονικά κύτταρα [165].

3.8 Περιορισμοί των νανοσωλήνων άνθρακα στην κλινική εφαρμογή και εμπορική αξιοποίηση

Οι CNT παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα χρήσεων στην ηλεκτρονική, την αποθήκευση ενέργειας, την επιστήμη και τη μηχανική των υλικών, τη διάγνωση και την υγειονομική περίθαλψη. Η τοξικότητα των νανοσωλήνων άνθρακα αποτελεί εμπόδιο στις προσπάθειες για περαιτέρω εφαρμογή τους, ιδίως στο πλαίσιο της θεραπευτικής, και έχει εμποδίσει τη μετάβαση των CNT από το εργαστήριο στις κλινικές δοκιμές [126]. Επειδή η πλειονότητα των μελετών τοξικότητας που πραγματοποιήθηκαν ήταν για σύντομο χρονικό διάστημα, υπάρχει έλλειψη σε έρευνες που να μελετούν τη μακροχρόνια τοξικότητα των CNT. Η τοξικότητα επηρεάζεται επίσης από την τροποποίηση των CNT καθώς και από τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα νανοϊκρίσματα CNT διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη θεραπεία με βλαστοκύτταρα, επειδή έχουν τη δυνατότητα να ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους. Παρά τα καταπληκτικά χαρακτηριστικά τους, οι CNT έχουν αρκετά μειονεκτήματα. Είναι υδρόφοβοι και ποικίλουν σε μέγεθος, με συνέπεια να προκύπτουν ασυνεπή αποτελέσματα. Συνεπώς, απαιτείται ένα σύστημα για την παραγωγή CNTs ομοιόμορφου μεγέθους για μελλοντικές κλινικές μελέτες θεραπειών με τη χρήση CNT [170]. Η αδυναμία των CNTs για επαρκή και ρυθμιζόμενη απελευθέρωση των φαρμάκων αποτελεί άλλη μια αιτία για την καθυστέρηση της χρήσης τους σε κλινικές δοκιμές [171]. Επειδή η απελευθέρωση φαρμάκου από σύμπλοκα CNT-φαρμάκων είναι συχνά μη ρυθμιζόμενη και μη ικανοποιητική, τα σύμπλοκα CNT-φαρμάκων είναι λιγότερο δραστικά από τα ελεύθερα φάρμακα. Λόγω της μεταβλητότητας των CNT, η διασφάλιση της ομοιογένειας και

της αποτελεσματικότητας των συμπλόκων φαρμάκων-CNT αποτελεί επίσης ένα ιδιαίτερα σημαντικό πρόβλημα.

Η απελευθέρωση φαρμάκων αντιμετωπίζει επίσης μια σειρά από εμπόδια, συμπεριλαμβανομένου του υψηλού κόστους ανάπτυξής τους. Για να επιτευχθεί ελεγχόμενη απελευθέρωση φαρμάκων, μπορεί να απαιτηθεί ιδιαίτερα δαπανηρός εξοπλισμός και υλικά [172].

Η κατάποση της τροφής και ο χρόνος γαστρικής απόκρισης μπορεί να επηρεάσουν την απελευθέρωση του φαρμάκου. Η κατανάλωση από το στόμα χορηγούμενων συστημάτων μπορεί να διαταράξει την αρχικά ελεγχόμενη απελευθέρωσή τους, με συνέπεια την απώλεια του σταθερού ρυθμού απελευθέρωσης [172].

Παρά τα πολυάριθμα ενθαρρυντικά αποτελέσματα των νανοσωλήνων άνθρακα στη βιοϊατρική, παραμένουν διάφορα προβλήματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν προτού οι CNT να ολοκληρωθούν σε βιοϊατρικές διατάξεις και τεχνολογίες. Η πρόοδος που απαιτείται για τη μεταβατική χρήση των CNT σε κλινικό περιβάλλον και για την εμπορική τους αξιοποίηση περιλαμβάνουν:

(1) ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των βιοαισθητήρων με βάση τους CNT, (2) αποτελεσματική μεταφορά φαρμάκων από και προς τους CNT, (3) ελαχιστοποίηση της πιθανότητας μη ειδικής πρόσδεσης των CNT στο σημείο ενδιαφέροντος, (4) περισσότερη έρευνα σχετικά με τη μακροπρόθεσμη τοξικότητα των νανοσωλήνων άνθρακα με τη χρήση διαφόρων ζωικών μοντέλων και δοσολογιών, (5) μη επεμβατικές προσεγγίσεις για την άμεση έγχυση συμπλόκων CNT-φαρμάκων στο σημείο στόχο, (6) πρόληψη της διαφυγής ενθυλακωμένων φαρμάκων από τους CNT, (7) βελτίωση της φαρμακοκινητικής των CNT in vivo (για το οποίο θα πρέπει πρώτα να παραχθούν ομοιογενείς CNT), (8) μεγαλύτερες δόσεις siRNA για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας για αποτελεσματική γονιδιακή αποσιώπηση,

(9) ανάπτυξη υβριδικών ικριωμάτων CNT για την αύξηση της κυτταρικής προσκόλλησης, της ανάπτυξης, της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού [174,175]. Η Ensysce Biosciences δημιούργησε SWCNTs συζευγμένους με siRNA για τη θεραπεία του καρκίνου, οι οποίοι είναι σχεδόν έτοιμοι και πληρούν τα περισσότερα κριτήρια για να είναι εμπορικά διαθέσιμοι. Δόθηκε άδεια από τον FDA για την εκτέλεση κλινικών δοκιμών για την μεταφορά siRNA σε καρκινικά κύτταρα με τα προαναφερθέντα μόρια. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (US Food and Drug Administration – FDA) ενέκρινε τη χρήση νανοσωλήνων άνθρακα για τη βελτίωση της απεικονιστικής διαγνωστικής στον καρκίνο του παχέος εντέρου [173].

Ως συνέπεια της πιθανής τοξικότητας των CNT, οι κλινικές δοκιμές προχωρούν με πολύ αργούς ρυθμούς. Για να προσδιοριστεί η τοξικότητα των CNTs πριν χρησιμοποιηθούν σε κλινικές μελέτες, απαιτείται περισσότερη έρευνα.

3.9 Αναδυόμενες μελλοντικές εφαρμογές των CNTs

Η στοχευμένη μεταφορά φαρμάκων, τα νανο-ικριώματα για τη μηχανική ιστών, η βιοϊατρική απεικόνιση και διάγνωση για τη θεραπεία ασθενειών και η παρακολούθηση της υγείας, είναι τομείς στους οποίους οι CNT μελετώνται εκτενώς. Λόγω των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους, οι CNTs παρουσιάζουν δυνατότητες στην κατασκευή διατάξεων για ταυτόχρονη στοχευμένη μεταφορά φαρμάκων και ανίχνευση ασθενειών [176]. Όπως έχει αποδειχθεί σε προηγούμενες έρευνες, οι CNTs θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον ως μέσα για τον ταυτόχρονο εντοπισμό και τη θεραπεία του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, με πιθανή μείωση των δυσμενών παρενεργειών σε

σύγκριση με τις συμβατικές θεραπείες του. Οι CNTs θα μπορούσαν να συνδυαστούν με υπερευαίσθητους δείκτες για να βελτιώσουν τη στόχευσή τους, με μελλοντικό στόχο την ακριβή διάκριση μεταξύ κατεστραμμένων και υγιών ιστών [177]. Οι MWCNTs έχουν τη δυνατότητα να βελτιώσουν τα πρωτόκολλα για τη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων στη θεραπεία νευρολογικών ασθενειών in vivo [178]. Παρόλο που οι νανοσωλήνες άνθρακα μπορούν να λειτουργήσουν ως φορείς για siRNA in vivo, έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον για την αποσιώπηση των γονιδίων του ενζύμου κασπάση-3, με αποτέλεσμα τη μείωση του νευρωνικού θανάτου. Βιοαισθητήρες που βασίζονται σε CNTs, μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας στις υγειονομικές δομές περίθαλψης και θα μπορούσαν να κατασκευαστούν με χαμηλό κόστος και να απορριφθούν ή να ανακυκλωθούν μετά τη χρήση τους. Θα μπορούσαν να είναι αρκετά απλοί για να τους χρησιμοποιούν ακόμη και απλοί άνθρωποι για την ανίχνευση βιοοδεικτών σε νευρολογικές ασθένειες όπως το εγκεφαλικό επεισόδιο [179]. Οι CNTs προβλέπεται ότι θα διαδραματίσουν βασικό ρόλο στην ανάπτυξη πρωτοποριακών τεχνολογιών διάγνωσης, απεικόνισης και μεταφοράς φαρμάκων ειδικά για τον εγκέφαλο, λόγω του μικροσκοπικού μεγέθους τους, της μεγάλης επιφάνειάς τους, της εξειδίκευσής τους και της πολυλειτουργικότητάς τους. Αυτές οι νανосуσκευές έχουν τη δυνατότητα να συμβάλουν σημαντικά με καινοτόμους τρόπους διάγνωσης και θεραπείας οξείων και χρόνιων νευρολογικών ασθενειών του ΚΝΣ [9]. Οι CNTs έχουν τη δυνατότητα να αναδιαμορφώσουν την ιατρική, καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά φαρμάκων, την ανίχνευση ασθενειών και τη μηχανική ιστών [173,180].

3.10 Συμπέρασμα και μελλοντικές προοπτικές

Η εφαρμογή της νανοτεχνολογίας στην ιατρική βοηθά στην ανίχνευση και τη θεραπεία πολλών ασθενειών, αυξάνοντας την ευαισθησία του εξοπλισμού και των διαφόρων παραμέτρων της φαρμακευτικής αγωγής, αυξάνοντας κατά συνέπεια την αποτελεσματικότητά τους. Επειδή τα NPs έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση και τη θεραπεία ασθενειών και διαταραχών του εγκεφάλου, η διάγνωση και η θεραπεία των οποίων παραμένει δύσκολη εδώ και πολλά χρόνια. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερες έρευνες για την αξιολόγηση της τοξικότητας και της βιοσυσσωρεύσης αυτών των σωματιδίων σε κλινικές συνθήκες, προκειμένου να επαληθευτεί η χρησιμότητα και η αποτελεσματικότητά τους.

Η τοξικότητα των CNTs, η τροποποίηση, η ανταπόκρισή τους σε ερεθίσματα και η χρήση τους στην αποκατάσταση των εγκεφαλικών ιστών συζητήθηκαν διεξοδικά. Εξετάστηκαν οι πιθανές εφαρμογές των νανοσωλήνων άνθρακα, καθώς και η πρόοδος τους στη διάγνωση και τη θεραπεία νευρολογικών και ισχαιμικών ασθενειών. Η τοξικότητα, η ετερογένεια και η ικανότητα διασποράς είναι μεταξύ των ζητημάτων που πρέπει να αντιμετωπιστούν προτού οι CNTs ενσωματωθούν επιτυχώς σε βιοϊατρικές διατάξεις και τεχνολογίες. Ανακαλύφθηκε ότι η δυνατότητα χρήσης των CNTs σε κλινικό πλαίσιο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την τροποποίησή τους. Πράγματι, η χρήση της τεχνολογίας των CNTs στη διάγνωση και τη θεραπεία του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και άλλων νευρολογικών ασθενειών θα μπορούσε να φέρει επανάσταση στον τομέα αυτό.

Βιβλιογραφία

- [1] V.L. Feigin, E. Nichols, T. Alam, M.S. Bannick, E. Beghi, et al., GBD. 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016, *Lancet Neurol.* 18 (2019) 459–480. doi:10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
- [2] T.M. Barchet, M.M. Amiji, Challenges and opportunities in cns delivery of therapeutics for neurodegenerative diseases, *Expert Opin. Drug Deliv.* 6 (2009) 211–225. doi:10.1517/17425240902758188.
- [3] S.A. Pathan, Z. Iqbal, S.M. Zaidi, S. Talegaonkar, D. Vohra, G.K. Jain, et al., Cns drug delivery systems: novel approaches. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.* 3 (2009) 71–89. doi:10.2174/187221109787158355.
- [4] H.L. Wong, X.Y. Wu, R. Bendayan, Nanotechnological advances for the delivery of cns therapeutics, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64 (2012) 686–700. doi:10.1016/j.addr.2011.10.007.
- [5] A. Misra, S. Ganesh, A. Shahiwala, S.P. Shah, Drug delivery to the central nervous system: a review, *J. Pharm. Pharm. Sci.* 6 (2003) 252–273.
- [6] K. Nagpal, S.K. Singh, D.N. Mishra, Drug targeting to brain: a systematic approach to study the factors, parameters and approaches for prediction of permeability of drugs across BBB, *Expert Opin. Drug Deliv.* 10 (2013) 927–955. doi:10.1517/17425247.2013.762354.
- [7] S.M. Gloor, M. Wachtel, M.F. Bolliger, H. Ishihara, R. Landmann, K. Frei, Molecular and cellular permeability control at the blood-brain barrier, *Brain Res. Rev.* 36 (2001) 258–264. doi:10.1016/s0165-0173(01)00102-103.
- [8] R. Alyautdin, I. Khalin, M.I. Nafeeza, M.H. Haron, D. Kuznetsov, Nanoscale drug delivery systems and the blood–brain barrier, *Int. J. Nanomed.* 9 (2014) 795–811. doi:10.2147/IJN.S52236.
- [9] S.B. Nair, A. Dileep, G.K. Rajanikant, Nanotechnology based diagnostic and therapeutic strategies for neuroscience with special emphasis on ischemic stroke, *Current Med. Chem.* 19 (5) (2012) 744–756.
- [10] S. Kyle, S. Saha, Nanotechnology for the detection and therapy of stroke, *Adv. Healthcare Mater.* 3 (11) (2014) 1703–1720.
- [11] R.J. Turner, R. Vink, Combined tissue plasminogen activator and an NK1 tachykinin receptor antagonist: an effective treatment for reperfusion injury following acute ischemic stroke in rats, *Neuroscience* 220 (2012) 1–10.
- [12] J.L. Gilmore, X. Yi, L. Quan, A.V. Kabanov, Novel

- nano- materials for clinical neuro-science, *J. NeuroImmune Pharmacol.* 3 (2) (2008) 83–94.
- [13] G. Modi, V. Pillay, Y.E. Choonara, V.M.K. Ndesendo, L.C. du Toit, D. Naidoo, Nano-technological applications for the treatment of neurodegenerative disorders, *Progress Neurobiol.* 88 (4) (2009) 272–285.
- [14] I.P. Kaur, R. Bhandari, S. Bhandari, V. Kakkar, Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting, *J. Control Rel.* 127 (2008) 97–109. doi:10.1016/j.jconrel.2007.12.018.
- [15] G.A. Silva, Nanotechnology approaches to crossing the blood-brain barrier and drug de-livery to the cns, *BMC Neurosci.* 9 (2008) S4. doi:10.1186/1471-2202-9-S3-S4.
- [16] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA Cancer J. Clin.* 68 (2018) 394–424. doi:10.3322/caac.21492.
- [17] C.K. Cramer, N. McKee, L.D. Case, M.D. Chan, T.L. Cummings, G.J. Lesser, et al., Mild cognitive impairment in long-term brain tumor survivors following brain irradiation, *J. Neurooncol.* 141 (2019) 235–244. doi:10.1007/s11060-018-03032-8.
- [18] E. Nance, C. Zhang, T.Y. Shih, Q. Xu, B.S. Schuster, J. and Hanes, Brainpenetrating nanoparticles improve paclitaxel efficacy in malignant glioma following local administration, *ACS Nano* 8 (2014) 10655–10664. doi:10.1021/nn504210g.
- [19] Q. Feng, Y. Shen, Y. Fu, M.E. Muroski, P. Zhang, Q. Wang, et al., Selfassembly of gold nanoparticles shows microenvironment-mediated dynamic switching and enhanced brain tumor targeting, *Theranostics* 7 (2017) 1875–1889. doi:10.7150/thno.18985.
- [20] E.M. Chen, A.R. Quijano, Y.E. Seo, C. Jackson, A.D. Josowitz, S. Noorbakhsh, et al., Biodegradable PEG-poly(&-pentadecalactone-co-p-dioxanone) nanoparticles for enhanced and sustained drug delivery to treat brain tumors, *Biomaterials* 178 (2018) 193–203. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.06.024.
- [21] K.L. Kozielski, A. Ruiz-Valls, S.Y. Tzeng, H. Guerrero-Cázares, Y. Rui, Y. Li, et al., Cancer-selective nanoparticles for combinatorial siRNA delivery to primary human GBM in vitro and in vivo, *Biomaterials* 209 (2019) 79–87. doi:10.1016/j.biomaterials.2019.04.020.
- [22] A. Mangraviti, S.Y. Tzeng, K.L. Kozielski, Y. Wang, Y. Jin, D. Gullotti, et al., Poly-meric nanoparticles for nonviral gene therapy extend brain tumor survival in vivo, *ACS Nano* 9 (2015) 1236–1249. doi:10.1021/nn504905q.
- [23] J.L. Sarrazin, F. Bonneville, G. Martin-Blondel, Brain infections. *Diagn. Interv. Imaging* 93 (2012) 473–490. doi:10.1016/j.diii.2012.04.020.
- [24] M.D. Baldissera, C.F. Souza, T.H. Grando, K.L. Moreira, A.S. Schafer, L.F. Cossetin, et al., Nerolidol-loaded nanospheres prevent behavioral impairment via ameliorating Na⁺, K⁺-ATPase and AChE activities as well as reducing oxidative stress in the brain of *Trypanosoma evansi*-infected mice, *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 390 (2017) 139–148. doi:10.1007/s00210-016-1313-8.
- [25] Y. Gong, K. Zhi, P. Nagesh, N. Sinha, P. Chowdhury, H. Chen, et al., An elvitegravir nanoformulation crosses the blood-brain barrier and suppresses HIV-1 replication in microglia, *Viruses* 12 (2020) 564. doi:10.3390/v12050564.
- [26] A. Kaushik, A. Yndart, V. Alturi, S. Tiwari, A. Tomitaka, P. Gupta, et al., Magnetically guided non-invasive CRISPR-Cas9/gRNA delivery across blood-brain barrier to eradicate latent HIV-1 infection, *Sci. Rep.* 9 (2019) 3928. doi:10.1038/s41598-019-40222-4.
- [27] J. Desai, H. Thakkar, Darunavir-loaded lipid nanoparticles for targeting to HIV reservoirs, *AAPS PharmSciTech* 19 (2018) 648–660. doi:10.1208/s12249-017-0876-0.
- [28] Z. Karami, M.R. Saghatchi Zanjani, S. Rezaee, K. Rostamizadeh, M. Hamidi, Neuro-pharmacokinetic evaluation of lactoferrin-treated indinavir-loaded nanoemulsions: re-markable brain delivery enhancement, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 45 (2019) 736–744. doi:10.1080/03639045.2019.1569039.
- [29] C. Martins, F. Araújo, M.J. Gomes, C. Fernandes, R. Nunes, W. Li, et al., Using micro-fluidic platforms to develop CNS-targeted polymeric nanoparticles for HIV therapy, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 138 (2019) 111–124. doi:10.1016/j.ejpb.2018.01.014.
- [30] A. Anwar, A. Numan, R. Siddiqui, M. Khalid, N.A. Khan, Cobalt nanoparticles as novel nanotherapeutics against *Acanthamoeba castellanii*, *Parasites Vectors* 12 (2019) 280. doi:10.1186/s13071-019-3528-2 a.
- [31] M.A. Dkhil, A.A. Bauomy, M.S. Diab, R. Wahab, D. Delic, S. Al-Quraishy, Impact of gold nanoparticles on brain of mice infected with *Schistosoma mansoni*, *Parasitol. Res.* 114 (2015) 3711–3719. doi:10.1007/s00436-015-4600-2.
- [32] A.A. Bauomy, Zinc oxide nanoparticles and L-carnitine effects on neuroschistosomiasis mansoni induced in mice, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 27 (2020) 18699–18707. doi:10.1007/s11356-020-08356-5.
- [33] R.I. I, S. Mj, G. R, M. Fj, B. Mj, M.F and Ma, Gold nanoparticles crossing blood-brain barrier prevent HSV-1 infection and reduce herpes associated amyloid-bsecretion, *J. Clin. Med.* 9 (2020) 155. doi:10.3390/jcm9010155.
- [34] P. Marcianes, S. Negro, L. García-García, C. Montejo, E. Barcia, A. Fernández-Carballido, Surface-modified gatifloxacin nanoparticles with potential for treating central nervous system tuberculosis, *Int. J. Nanomed.* 12 (2017) 1959–1968.

- doi:10.2147/IJN.S130908.
- [35] K. Rajendran, A. Anwar, N.A. Khan, R. Siddiqui, Brainating amoebae: silver nanoparticle conjugation enhanced efficacy of anti-amoebic drugs against *Naegleria fowleri*, *ACS Chem. Neurosci.* 8 (2017) 2626–2630.
- [36] A.E. LaBauve, T.E. Rinker, A. Noureddine, R.E. Serda, J.Y. Howe, M.B. Sherman, et al., Lipid-coated mesoporous silica nanoparticles for the delivery of the ML336 antiviral to inhibit encephalitic alphavirus infection, *Sci. Rep.* 8 (2018) 13990. doi:10.1038/s41598-018-32033-w.
- [37] M.C. Dewan, A. Rattani, S. Gupta, R.E. Baticulon, Y.C. Hung, M. Punchak, et al., Estimating the global incidence of traumatic brain injury, *J. Neurosurg.* (2018). doi:10.3171/2017.10.JNS17352.
- [38] N. Kerr, S.W. Lee, J. Perez-Barcena, C. Crespi, J. Ibañez, M.R. Bullock, et al., Inflammation as biomarkers of traumatic brain injury, *PLoS One* 13 (2018), e0210128. doi:10.1371/journal.pone.0210128.
- [39] B. Ruozi, D. Belletti, H.S. Sharma, A. Sharma, D.F. Muresanu, H. Mössler, et al., PLGA nanoparticles loaded Cerebrolysin: studies on their preparation and investigation of the effect of storage and serum stability with reference to traumatic brain injury, *Mol. Neurobiol.* 52 (2015) 899–912. doi:10.1007/s12035-015-9235-x.
- [40] I. Khalin, R. Alyautdin, T.W. Wong, J. Gnanou, G. Kocherga, J. Kreuter, Brain-derived neurotrophic factor delivered to the brain using poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles improves neurological and cognitive outcome in mice with traumatic brain injury, *Drug Deliv.* 23 (2016) 3520–3528. doi:10.1080/10717544.2016.1199609.
- [41] D. Yoo, A.W. Magsam, A.M. Kelly, P.S. Stayton, F.M. Kievit, A.J. Convertine, Core-cross-linked nanoparticles reduce neuroinflammation and improve outcome in a mouse model of traumatic brain injury, *ACS Nano* 11 (2017) 8600–8611. doi:10.1021/acsnano.7b03426.
- [42] L.N. Zamproni, M.V. Mundim, M.A. Porcionatto, A. des Rieux, Injection of SDF-1 loaded nanoparticles following traumatic brain injury stimulates neural stem cell recruitment, *Int. J. Pharm.* 519 (2017) 323–331. doi:10.1016/j.ijpharm.2017.01.036.
- [43] Z.S. Bailey, E. Nilson, J.A. Bates, A. Oyalowo, K.S. Hockey, V. Sajja, et al., Cerium oxide nanoparticles improve outcome after in vitro and in vivo mild traumatic brain injury, *J. Neurotrauma* 37 (2020) 1452–1462. doi:10.1089/neu.2016.4644.
- [44] M. Sharma, R. Sharma, D.K. Jain, A. Saraf, Enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble carvedilol by chitosan nanoparticles: optimization and pharmacokinetic study, *Int. J. Biol. Macromol.* 135 (2019) 246–260. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.162.
- [45] W.A. Ratliff, J.N. Saykally, R.F. Mervis, X. Lin, C. Cao, B.A. Citron, Behavior, protein, and dendritic changes after model traumatic brain injury and treatment with nano-coffee particles, *BMC Neurosci.* 20 (2019) 44. doi:10.1186/s12868-019-0525-5.
- [46] S.S. Virani, A. Alonso, E.J. Benjamin, M.S. Bittencourt, C.W. Callaway, A.P. Carson, et al., Heart disease and stroke statistics—2020 update: a report from the American Heart Association, *Circulation* 141 (2020) e139–e596. doi:10.1161/CIR.0000000000000757.
- [47] M.P. Lindsay, B. Norrving, R.L. Sacco, M. Brainin, W. Hacke, S. Martins, et al., World Stroke Organization (WSO): global stroke fact sheet 2019, *Int. J. Stroke* 14 (2019) 806–817. doi:10.1177/1747493019881353.
- [48] H. Amani, R. Habibey, F. Shokri, S.J. Hajmiresmail, O. Akhavan, A. Mashaghi, et al., Selenium nanoparticles for targeted stroke therapy through modulation of inflammatory and metabolic signaling, *Sci. Rep.* 9 (2019) 6044. doi:10.1038/s41598-019-42633-9.
- [49] G. Deng, C. Ma, H. Zhao, S. Zhang, J. Liu, F. Liu, et al., Anti-edema and antioxidant combination therapy for ischemic stroke via glyburide-loaded betulinic acid nanoparticles, *Theranostics* 9 (2019) 6991–7002. doi:10.7150/thno.35791.
- [50] X. Guo, G. Deng, J. Liu, P. Zou, F. Du, F. Liu, et al., Thrombin-responsive, brain-targeting nanoparticles for improved stroke therapy, *ACS Nano* 12 (2018) 8723–8732. doi:10.1021/acsnano.8b04787.
- [51] J.R. Vani, M.T. Mohammadi, M.S. Foroshani, M. Jafari, Polyhydroxylated fullerene nanoparticles attenuate brain infarction and oxidative stress in rat model of ischemic stroke, *EXCLI J.* 15 (2016) 378–390. doi:10.17179/excli2016-309.
- [52] S. Darabi, M.T. Mohammadi, Fullerene nanoparticles decrease ischemia-induced brain injury and oedema through inhibition of oxidative damage and aquaporin-1 expression in ischemic stroke, *Brain Injury* 31 (2017) 1142–1150. doi:10.1080/0269052.2017.1300835.
- [53] K.G. Langer, Early history of amnesia, *Front. Neurol. Neurosci.* 44 (2019) 64–74. doi:10.1159/000494953.
- [54] K. Nagpal, S.K. Singh, D.N. Mishra, Optimization of brain targeted chitosan nanoparticles of Rivastigmine for improved efficacy and safety, *Int. J. Biol. Macromol.* 59 (2013) 72–83. doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.04.024.
- [55] A.A. Basel, V.E. Petrov, S.S. Trofimov, T.A. Voronina, R.N. Aliautdin, Antiamnesic activity of nerve growth factor adsorbed on poly(butyl) cyanoacrylate nanoparticles coated with polysorbate-80, *Eksp. Klin. Farmakol.* 68 (2005) 3–8.
- [56] Singh Sunena, K. S., D.N. Mishra, Nose to brain delivery of galantamine loaded nanoparticles: in-vivo pharmacodynamic and biochemical study in mice, *Curr. Drug Deliv.* 16 (2019) 51–58. doi:10.2174/1567201815666181004094707.
- [57] S. Bejerot, V. Nordin, Autismspektrum syndrom

- ersätter Aspergers syndrom och autism [Autism spectrum syndrome replaces Asperger syndrome and autism], *Lakartidningen* 111 (2014) 1660–1663.
- [58] American Psychiatric Association, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th Ed., American Psychiatric Association Publishing, Washington, DC, 2013.
- [59] J. Baio, L. Wiggins, D.L. Christensen, M.J. Maenner, J. Daniels, Z. Warren, et al., Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years – autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2014, *MMWR Surveil. Summ.* 67 (2018) 1–23. doi:10.15585/mmwr.ss6706a1.
- [60] K. Özerk, D. Cardinal, Prevalence of Autism/ASD among preschool and school-age children in Norway, *Contemp. Sch. Psychol.* 24 (2020) 419–428. doi:10.007/s40688-020-00302-z.
- [61] T. Notter, L. Aengenheister, U. Weber-Stadlbauer, H. Naegeli, P. Wick, U. Meyer, et al., Prenatal exposure to TiO₂ nanoparticles in mice causes behavioral deficits with relevance to autism spectrum disorder and beyond, *Transl. Psychiatry* 8 (2018) 193. doi:10.1038/s41398-018-0251-2.
- [62] R.H. Brown, A. Al-Chalabi, Amyotrophic lateral sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 377 (2017) 162–172. doi:10.1056/NEJMr1603471.
- [63] L. Chico, E.C. Ienco, C. Bisordi, A. Lo Gerfo, L. Petrozzi, A. Petrucci, et al., Amyotrophic lateral sclerosis and oxidative stress: a double-blind therapeutic trial after Cur-cumin supplementation, *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 17 (2018) 767–779. doi:10.2174/1871527317666180720162029.
- [64] L. Lam, L. Chin, R.C. Halder, B. Sagong, S. Famenini, J. Sayre, et al., Epigenetic changes in T-cell and monocyte signatures and production of neurotoxic cytokines in ALS patients, *FASEB J.* 30 (2016) 3461–3473. doi:10.1096/fj.201600259RR.
- [65] D. Keizman, O. Rogowski, S. Berliner, M. Ish-Shalom, N. Maimon, B. Nefussy, et al., Low-grade systemic inflammation in patients with amyotrophic lateral sclerosis, *Acta Neurol. Scand.* 119 (2009) 383–389. doi:10.1111/j.1600-0404.2008.01112.x.
- [66] W. DeCoteau, K.L. Heckman, A.Y. Estevez, K.J. Reed, W. Costanzo, D. Sandford, et al., Cerium oxide nanoparticles with antioxidant properties ameliorate strength and pro-long life in mouse model of amyotrophic lateral sclerosis, *Nanomedicine* 12 (2016) 2311–2320. doi:10.1016/j.nano.2016.06.009.
- [67] D.X. Medina, E.P. Chung, C.D. Teague, R. Bowser, R.W. Sirianni, Intravenously administered, retinoid activating nanoparticles increase lifespan and reduce neurodegeneration in the SOD1G93A mouse model of ALS, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8 (2020) 224. doi:10.3389/fbioe.2020.00224.
- [68] E. Nam, Y.B. Lee, C. Moon, K.A. Chang, Serum tau proteins as potential biomarkers for the assessment of Alzheimer's disease progression, *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020) 5007. doi:10.3390/ijms21145007.
- [69] K. Tagai, M. Ono, M. Kubota, S. Kitamura, K. Takahata, C. Seki, et al., High-contrast in vivo imaging of tau pathologies in Alzheimer's and non-Alzheimer's disease tauopathies, *Neuron* 109 (2020) 42–58. doi:10.1016/j.neuron.2020.09.0423e8.
- [70] S.K. Sonawane, A. Ahmad, S. Chinnathambi, Protein-capped metal nanoparticles inhibit tau aggregation in Alzheimer's disease, *ACS Omega* 4 (2019) 12833–12840. doi:10.1021/acsomega.9b01411.
- [71] K.N. Green, J.S. Steffan, H. Martinez-Coria, X. Sun, S.S. Schreiber, L.M. Thompson, et al., Nicotinamide restores cognition in Alzheimer's disease transgenic mice via a mechanism involving sirtuin inhibition and selective reduction of Thr231-phosphotau, *J. Neurosci.* 28 (2008) 11500–11510. doi:10.1523/JNEUROSCI.3203-08.2008.
- [72] A. De Simone, V. La Pietra, N. Betari, N. Petragiani, M. Conte, S. Daniele, et al., Discovery of the first-in-class GSK-3 β /HDAC dual inhibitor as disease-modifying agent to combat Alzheimer's disease, *ACS Med. Chem. Lett.* 10 (2019) 469–474. doi:10.1021/acsmchemlett.8b00507.
- [73] L.A. Soares Romeiro, J.L. da Costa Nunes, C. de Oliveira Miranda, G. Simões Heyn Roth Cardoso, A.S. de Oliveira, A. Gandini, et al., Novel sustainable-by-design HDAC inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease, *ACS Med. Chem. Lett.* 10 (2019) 671–676. doi:10.1021/acsmchemlett.9b00071.
- [74] M.A. Vakilinezhad, A. Amini, Akbari Javar, Baha'addini Beigi Zarandi H., F. B., H. Montaseri, R. Dinarvand, Nicotinamide loaded functionalized solid lipid nanoparticles improves cognition in Alzheimer's disease animal model by reducing Tau hyperphosphorylation, *DARU J. Pharm. Sci.* 26 (2018) 165–177. doi:10.1007/s40199-018-0221-5.
- [75] K.A. Moore, K.M. Pate, D.D. Soto-Ortega, S. Lohse, N. van der Munnik, M. Lim, et al., Influence of gold nanoparticle surface chemistry and diameter upon Alzheimer's disease amyloid- β protein aggregation, *J. Biol. Eng.* 11 (2017) 5. doi:10.1186/s13036-017-0047-6.
- [76] Y.H. Liao, Y.J. Chang, Y. Yoshiike, Y.C. Chang, Y.R. Chen, Negatively charged gold nanoparticles inhibit Alzheimer's amyloid- β fibrillization, induce fibril dissociation, and mitigate neurotoxicity, *Small* 8 (2012) 3631–3639. doi:10.1002/smll.201201068.
- [77] GBD, 2016 Parkinson's Disease Collaborators, Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016, *Lancet Neurol.* 17 (2018) 939–953.
- [78] J.F. Cooper, K.K. Spielbauer, M.M. Senchuk, S. Nadarajan, M.P. Colaiacovo, J.M. Van Raamsdonk, α -synuclein expression from a single copy transgene increases sensitivity to stress and

- accelerates neuronal loss in genetic models of Parkinson's disease, *Exp. Neurol.* 310 (2018) 58–69. doi:10.1016/j.expneurol.2018.09.001.
- [79] K. Chatterjee, A. Roy, R. Banerjee, S. Choudhury, B. Mondal, S. Halder, et al., In-flammasome and α -synuclein in Parkinson's disease: a cross-sectional study, *J. Neuro-immunol.* 338 (2020), 577089. doi:10.1016/j.jneuroim.2019.577089.
- [80] C.W. Chang, S.Y. Yang, C.C. Yang, C.W. Chang, Y.R. Wu, Plasma and serum α -Synuclein as a biomarker of diagnosis in patients with Parkinson's disease, *Front. Neurol.* 10 (2020) 1388. doi:10.3389/fneur.2019.01388.
- [81] S. Niu, L.K. Zhang, L. Zhang, S. Zhuang, X. Zhan, W.Y. Chen, et al., Inhibition by multifunctional magnetic nanoparticles loaded with α -synuclein in RNAi plasmid in a Parkinson's disease model, *Theranostics* 7 (2017) 344–356.
- [82] C. Saraiva, J. Paiva, T. Santos, L. Ferreira, L. Bernardino, MicroRNA-124 loaded nanoparticles enhance brain repair in Parkinson's disease, *J. Control.* 235 (2016) 291–305. doi:10.1016/j.jconrel.2016.06.005.
- [83] N. Wang, X. Jin, D. Guo, G. Tong, X. Zhu, Iron chelation nanoparticles with delayed saturation as an effective therapy for Parkinson disease, *Biomacromolecules* 18 (2017) 461–474. doi:10.1021/acs.biomac.6b01547.
- [84] E. da Silva Córneo, G. de Bem Silveira, R. Scussel, M. Correa, J. da Silva Abel, G.P. Luiz, et al., Effects of gold nanoparticles administration through behavioral and oxidative parameters in animal model of Parkinson's disease, *Coll. Surf. B Biointerf.* 196 (2020), 111302. doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111302.
- [85] L.B. Vong, Y. Sato, P. Chonpathompikunlert, S. Tanasawet, P. Hutamekalin, Y. Naga-saki, Self-assembled polydopamine nanoparticles improve treatment in Parkinson's disease model mice and suppress dopamine-induced dyskinesia, *Acta Biomater.* 109 (2020) 220–228. doi:10.1016/j.actbio.2020.03.021.
- [86] M.N. Sardoiwala, A.K. Srivastava, B. Kaundal, S. Karmakar, S.R. Choudhury, Recu-perative effect of metformin loaded polydopamine nanoformulation promoting EZH2 mediated proteasomal degradation of phospho- α -synuclein in Parkinson's disease model, *Nanomedicine* 24 (2020), 102088. doi:10.1016/j.nano.2019.102088.
- [87] D.R. Langbehn, R.R. Brinkman, D. Falush, J.S. Paulsen, M.R. Hayden, and International Huntington's Disease Collaborative Group. A new model for prediction of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length, *Clin. Genet.* 65 (2004) 267–277. doi:10.1111/j.1399-0004.2004.00241.x.
- [88] Z. Lu, E. Marks, J. Chen, J. Moline, L. Barrows, M. Raisbeck, et al., Altered selenium status in Huntington's disease: neuroprotection by selenium in the N171-82Q mouse model, *Neurobiol. Dis.* 71 (2014) 34–42. doi:10.1016/j.nbd.2014.06.022.
- [89] S. Squadrone, P. Brizio, M.C. Abete, A. Brusco, Trace elements profile in the blood of Huntington's disease patients, *J. Trace Elem. Med. Biol.* 57 (2020) 18–20. doi:10.1016/j.jtemb.2019.09.006.
- [90] A. Ceccon, V. Tugarinov, G.M. Clore, TiO₂ nanoparticles catalyze oxidation of huntingtin Exon 1-derived peptides impeding aggregation: a quantitative NMR study of binding and kinetics, *J. Am. Chem. Soc.* 141 (2019) 94–97. doi:10.1021/jacs.8b11441.
- [91] S. Ramachandran, S. Thangarajan, Thymoquinone loaded solid lipid nanoparticles counteracts 3-Nitropropionic acid induced motor impairments and neuroinflammation in rat model of Huntington's disease, *Metab. Brain Dis.* 33 (2018) 1459–1470. doi:10.1007/s11011-018-0252-0.
- [92] V. Leoni, J.D. Long, J.A. Mills, S. Di Donato, J.S. Paulsen, Predict-Hd study group. Plasma 24S-hydroxycholesterol correlation with markers of Huntington disease progression, *Neurobiol. Dis.* 55 (2013) 37–43. doi:10.1016/j.nbd.2013.03.013.
- [93] M. Valenza, J.Y. Chen, E. Di Paolo, B. Ruozi, D. Belletti, C. Ferrari Bardile, et al., Cholesterol-loaded nanoparticles ameliorate synaptic and cognitive function in Huntington's disease mice, *EMBO Mol. Med.* 7 (2015) 1547–1564. doi:10.15252/emmm.201505413.
- [94] A. Passoni, M. Favagrossa, L. Colombo, R. Baginati, M. Gobbi, L. Diomedea, et al., Efficacy of cholesterol nose-to-brain delivery for brain targeting in Huntington's disease, *ACS Chem. Neurosci.* 11 (2020) 367–372. doi:10.1021/acschemneuro.9b00581.
- [95] L. Bø, C.A. Vedeler, H.I. Nyland, B.D. Trapp, S.J. Mørk, Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 62 (2003) 723–732. doi:10.1093/jnen/62.7.723.
- [96] C.F. Lucchinetti, B.F. Popescu, R.F. Bunyan, N.M. Moll, S.F. Roemer, H. Lassmann, et al., Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 365 (2011) 2188–2197. doi:10.1056/NEJMoa1100648.
- [97] E. Montes-Cobos, S. Ring, H.J. Fischer, J. Heck, J. Strauß, M. Schwaninger, et al., Targeted delivery of glucocorticoids to macrophages in a mouse model of multiple sclerosis using inorganic-organic hybrid nanoparticles, *J. Control. Release* 245 (2017) 157–169. doi:10.1016/j.jconrel.2016.12.003.
- [98] S. Rezaei, B. Dabirmanesh, L. Zare, A. Golestani, M. Javan, K. Khajeh, Enhancing myelin repair in experimental model of multiple sclerosis using immobilized chondroitinase ABC I on porous silicon nanoparticles, *Int. J. Biol. Macromol.* 146 (2020) 162–170. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.12.258.
- [99] R.S. Fisher, C. Acevedo, A. Arzimanoglou, A. Bogacz, J.H. Cross, C.E. Elger, et al., ILAE official report: a practical clinical definition of epilep-

- sy, *Epilepsia* 55 (2014) 475–482. doi:10.1111/epi.12550.
- [100] H. Kaur, I. Patro, K. Tikoo, R. Sandhir, Curcumin attenuates inflammatory response and cognitive deficits in experimental model of chronic epilepsy, *Neurochem. Int.* 89 (2015) 40–50. doi:10.1016/j.neuint.2015.07.009.
- [101] M. Hashemian, D. Anissian, M. Ghasemi-Kasman, A. Akbari, M. Khalili-Fomeshi, S. Ghasemi, et al., Curcumin-loaded chitosan-alginate-STPP nanoparticles ameliorate memory deficits and reduce glial activation in pentylenetetrazol-induced kindling model of epilepsy, *Prog. Neuro Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 79 (Pt B) (2017) 462–471. doi:10.1016/j.pnpbp.2017.07.025.
- [102] S.R. Mansoor, M. Hashemian, M. Khalili-Fomeshi, M. Ashrafpour, A.A. Moghadam-nia, M. Ghasemi-Kasman, Upregulation of klotho and erythropoietin contributes to the neuroprotection induced by curcumin-loaded nanoparticles in experimental model of chronic epilepsy, *Brain Res. Bull.* 142 (2018) 281–288. doi:10.1016/j.brainresbull.2018.08.010.
- [103] R. Huang, Y. Zhu, L. Lin, S. Song, L. Cheng, R. Zhu, Solid lipid nanoparticles enhanced the neuroprotective role of curcumin against epilepsy through activation of Bcl-2 family and P38 MAPK pathways, *ACS Chem. Neurosci.* 11 (2020) 1985–1995. doi:10.1021/acscchemneuro.0c00242.
- [104] D. Anissian, M. Ghasemi-Kasman, M. Khalili-Fomeshi, A. Akbari, M. Hashemian, S. Kazemi, et al., Piperine-loaded chitosan-STPP nanoparticles reduce neuronal loss and astrocytes activation in chemical kindling model of epilepsy, *Int. J. Biol. Macromol.* 107 (Pt A) (2018) 973–983. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.09.073.
- [105] Z. Fang, S. Chen, J. Qin, B. Chen, G. Ni, Z. Chen, et al., Pluronic P85-coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles overcome phenytoin resistance in P-glycoprotein overexpressing rats with lithium-pilocarpine-induced chronic temporal lobe epilepsy, *Biomaterials* 97 (2016) 110–121. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.04.021.
- [106] A. Zybina, A. Anshakova, J. Malinovskaya, P. Melnikov, V. Baklaushev, V. Chekhonin, et al., Nanoparticle-based delivery of carbamazepine: a promising approach for the treatment of refractory epilepsy, *Int. J. Pharm.* 547 (2018) 10–23. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.05.023.
- [107] M. Hashemian, M. Ghasemi-Kasman, S. Ghasemi, A. Akbari, M. Moalem-Banhangi, L. Zare, et al., Fabrication and evaluation of novel quercetin-conjugated Fe₃O₄-b-cyclodextrin nanoparticles for potential use in epilepsy disorder, *Int. J. Nanomed.* 14 (2019) 6481–6495. doi:10.2147/IJN.S218317.
- [108] G. Modi, V. Pillay, Y.E. Choonara, Advances in the treatment of neurodegenerative disorders employing nanotechnology, *Ann. New York Acad. Sci.* 1184 (2010) 154–172. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05108.x.
- [109] J.L. Gilmore, X. Yi, L. Quan, A.V. Kabanov, Novel nano materials for clinical neuro-science, *J. Neuro Immune Pharmacol.* 3 (2) (2008) 83–94. doi:10.1007/s11481-007-9099-6.
- [110] S. Iijima, Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature* 354 (6348) (1991) 56–58. doi.org/10.1038/354056a0.
- [111] R.J. Turner, R. Vink, Combined tissue plasminogen activator and an NK1 tachykinin receptor antagonist: an effective treatment for reperfusion injury following acute is-chemic stroke in rats, *Neuroscience* 220 (2012) 1–10. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.06.047.
- [112] L. Zhang, T.J. Webster, Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration, *Nano Today* 4 (1) (2009) 66–80. doi:10.1016/j.nantod.2008.10.014.
- [113] R. Ravindra, B. Bhat, Synthesis of aligned carbon nanotubes by floating catalyst method using ferrocene, *J. Metals Mater. Minerals* 21 (2) (2011) 95–99.
- [114] R.L. Chen, J.S. Balami, M.M. Esiri, L.-K. Chen, A.M. Buchan, Ischemic stroke in the elderly: an overview of evidence, *Nat. Rev. Neurol.* 6 (5) (2010) 256–265. doi:10.1038/nrneurol.2010.36.
- [115] M. Beg, K. Ahmad, P. Renjen, Epidemiological study of incidence and risk factors of Ischemic stroke subtypes according to Trial of ORG 10172 in acute stroke treatment criteria: a 3 years, hospital-based study, *Int. J. Med. Public Health* 5 (1) (2015) 50–54. doi:10.4103/2230-8598.151258.
- [116] A. Nunes, K.T. Al-Jamal, K. Kostarelos, Therapeutics, imaging and toxicity of nano-materials in the central nervous system, *J. Control. Release* 161 (2) (2012) 290–306. doi:10.1016/j.jconrel.2012.03.026.
- [117] L. Lacerda, A. Bianco, M. Prato, K. Kostarelos, Carbon nanotubes as nanomedicines: from toxicology to pharmacology, *Adv. Drug Del. Rev.* 58 (14) (2006) 1460–1470. doi:10.1016/j.addr.2006.09.015.
- [118] S. Marchesan, K. Kostarelos, A. Bianco, M. Prato, The winding road for carbon nanotubes in nanomedicine, *Mater. Today* 18 (1) (2015) 12–19. doi:10.1016/j.mattod.2014.07.009.
- [119] R.P. Feynman, There's plenty of room at the bottom, *Eng. Sci.* 23 (5) (1960) 22–36.
- [120] A. Fabbro, M. Prato, L. Ballerini, Carbon nanotubes in neuroregeneration and repair, *Adv. Drug Del. Rev.* 65 (15) (2013) 2034–2044. doi:10.1016/j.addr.2013.07.002.
- [121] L. Zhang, T.J. Webster, Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration, *Nano Today* 4 (1) (2009) 66–80. doi:10.1016/j.nantod.2008.10.014.
- [122] Y. Lee, K.E. Geckeler, Carbon nanotubes in the biological interphase: the relevance of noncovalence, *Adv. Mater.* 22 (36) (2010) 4076–4083. doi:10.1002/adma.201000746.
- [123] J.P. Ryman-Rasmussen, M.F. Cesta, A.R. Brody,

- et al., Inhaled carbon nanotubes reach the subpleural tissue in mice, *Nat. Nanotechnol.* 4 (11) (2009) 747–751. doi:10.1038/nnano.2009.305.
- [124] G.M. Mutlu, G.R.S. Budinger, A.A. Green, et al., Biocompatible nanoscale dispersion of single-walled carbon nanotubes minimizes in vivo pulmonary toxicity, *Nano Lett.* 10 (5) (2010) 1664–1670. doi:10.1021/nl9042483.
- [125] M. Valko, D. Leibfritz, J.M. Moncol, T.D. Cronin, M. Mazur, J. Telser, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39 (1) (2007) 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- [126] S. Jain, S.R. Singh, S. Pillai, Toxicity issues related to biomedical applications of car-bon nanotubes, *J. Nanomed. Nanotechnol.* 3 (5) (2012) 140. doi:10.4172/2157-743.
- [127] F.A. Witzmann, N.A. Monteiro-Riviere, Multi-walled carbon nanotube exposure alters protein expression in human keratinocytes, *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.* 2 (3) (2006) 158–168. doi:10.1016/j.nano.2006.07.005.
- [128] Y. Ni, I. Hu, E.B. Malarkey, et al., Chemically functionalized water soluble single-walled carbon nanotubes modulate neurite outgrowth, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 5 (10) (2005) 1707–1712. doi:10.1166/jnn.2005.189.
- [129] C. Gaijiard, G. Celiot, S. Li, et al., Carbon nanotubes carrying cell-adhesion peptides do not interfere with neuronal functionality, *Adv. Mater.* 21 (28) (2009) 2903–2908. doi:10.1002/adma.200900050.
- [130] L. Meng, A. Jiang, R. Chen, et al., Inhibitory effects of multiwall carbon nanotubes with high iron impurity on viability and neuronal differentiation in cultured PC12 cells, *Toxicology* 313 (1) (2013) 49–58. doi:10.1016/j.tox.2012.11.011.
- [131] J. Wang, P. Sun, Y. Bao, J. Liu, L. An, Cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes on PC12 cells, *Toxicol. Vitro* 25 (1) (2011) 242–250. doi:10.1016/j.tiv.2010.11.010.
- [132] J. Wang, P. Sun, Y. Bao, B. Dou, D. Song, Y. Li, Vitamin E renders protection to PC12 cells against oxidative damage and apoptosis induced by single-walled carbon nano-tubes, *Toxicol. Vitro* 26 (1) (2012) 32–41. doi:10.1016/j.tiv.2011.10.004.
- [133] J. Herná'ndez-Ferrer, R.N. Pe' rez-Bruzo'n, M.J. Azanza, et al., Study of neuron sur-vival on polypyrrole-embedded single-walled carbon nanotube substrates for long-term growth conditions, *J. Biomed. Mater. Res. A* 102 (12) (2014) 4443–4454. doi:10.1002/jbm.a.35110.
- [134] N. Singh, V. Pillay, Y.E. Choonara, Advances in the treatment of Parkinson's disease, *Prog. Neurobiol.* 81 (1) (2007) 29–44. doi:10.1016/j.pneurobio.2006.11.009.
- [135] A.M. Monaco, M. Giugliano, Carbon-based smart nanomaterials in biomedicine and neuroengi-neering, *Beilstein J. Nanotechnol.* 5 (1) (2014) 1849–1863. doi:10.3762/bjnano.5.196.
- [136] P. Gustavsson, M. Hedmer, J. Rissler, Carbon nanotubes, in *Carbon Nanotubes-Exposure, Toxicology and Protective Measures in the, Work Environment* (2011) 1–72.
- [137] R.-L. Chen, J.S. Balami, M.M. Esiri, L.-K. Chen, A.M. Buchan, Ischemic stroke in the elderly: an overview of evidence, *Nat. Rev. Neurol.* 6 (5) (2010) 256–265. doi:10.1038/nrneurol.2010.36.
- [138] M. Prato, K. Kostarelos, A. Bianco, Function-alized carbon nanotubes in drug Design and Discovery, *Acc. Chem. Res.* 41 (2007) 60–68. doi.org/10.1021/ar700089b.
- [139] D. Tasis, N. Tagmatarchis, A. Bianco, M. Prato, Chemistry of carbon nanotubes, *Chem. Rev.* 106 (3) (2006) 1105–1136. doi.org/10.1021/cr050569o.
- [140] V.E. Kagan, N.V. Konduru, W. Feng, et al., Carbon nan- otubes degraded by neutro-phil myeloperoxidase induce less pulmonary inflam-mation, *Nat. Nanotechnol.* 5 (5) (2010) 354–359. doi:10.1038/nnano.2010.44.
- [141] M. Zheng, A.J. agota, E.D. Semke, et al., DNA-assisted dispersion and separation of carbon nanotubes, *Nat. Mater.* 2 (5) (2003) 338–342. doi.org/10.1038/nmat877.
- [142] V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, et al., Individually suspended single-walled car-bon nanotubes in various surfactants, *Nano Lett.* 3 (10) (2003) 1379–1382. doi:10.1021/nl034524j.
- [143] R. Shvartzman-Cohen, Y. Levi-Kalisman, E. Nativ-Roth, R. Yerushalmi-Rozen, Ge-neric approach for dispersing single-walled carbon nanotubes: the strength of a weak interaction, *Langmuir* 20 (15) (2004) 6085–6088. doi:10.1021/la049344j.
- [144] G.R. Dieckmann, A.B. Dalton, P.A. Johnson, et al., Controlled assembly of carbon nanotubes by designed amphiphilic peptide helices, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (7) (2003) 1770–1777. doi:10.1021/ja029084x.
- [145] Z. Ji, D. Zhang, L. Li, et al., The hepatotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in mice, *Nano-technology* 20 (44) (2009). doi:10.1088/0957-4484/20/44/445101 Article ID 445101.
- [146] S. Jain, V.S. Thakare, M. Das, et al., Toxicity of multiwalled carbon nanotubes with end defects critically depends on their functionalization densi-ty, *Chem. Res. Toxicol.* 24 (11) (2011) 2028–2039. doi:10.1021/tx2003728.
- [147] N. Tagmatarchis, M. Prato, Functionalization of carbon nanotubes via 1,3-dipolar cy-cloaddi-tions, *J. Mater. Chem.* 14 (4) (2004) 437–439. doi:10.1039/B314039C.
- [148] A. Bianco, K. Kostarelos, M. Prato, Making car-bon nanotubes biocompatible and bio-degradable, *Chem. Commun.* 47 (37) (2011) 10182–10188. doi:10.1039/c1cc13011k.
- [149] A.J. Andersen, P.P. Wibroe, S.M. Moghimi, Perspectives on carbon nanotube-mediated adverse immune effects, *Adv. Drug Del. Rev.* 64 (15) (2012) 1700–1705. doi:10.1016/j.addr.2012.05.005.

- [150] C. Sacchetti, K. Motamedchaboki, A. Magrini, et al., Surface polyethylene glycol con-formation influences the protein corona of polyethylene glycol-modified single-walled carbon nanotubes: Potential implications on biological performance, *ACS Nano* 7 (3) (2013) 1974–1989. doi:10.1021/nn400409h.
- [151] G. Cirillo, S. Hampel, R. Klingeler, et al., Anti-oxidant multi walled carbon nanotubes by free radical grafting of gallic acid: new materials for biomedical applications, *J. Pharm. Pharmacol.* 63 (2) (2011) 179–188. doi:10.1111/j.2042-7158.2010.01211.x.
- [152] S. Vardharajula, S.Z. Ali, P.M. Tiwari, et al., Functionalized carbon nanotubes: bio-medical applications, *Int. J. Nanomed.* 7 (2012) 5361–5374. doi:10.2147/IJN.S35832.
- [153] S. Shityakov, E. Salvador, G. Pastorin, C. Förster, Blood- brain barrier transport studies, aggregation, and molecular dynamics simulation of multiwalled carbon nanotube functionalized with fluorescein isothiocyanate, *Int. J. Nanomed.* 10 (2015) 1703–1713. doi:10.2147/IJN.S68429.
- [154] D. Bonifazi, C. Nacci, R. Marega, et al., Microscopic and spectroscopic characterization of paintbrush-like single-walled carbon nanotubes, *Nano Lett.* 6 (7) (2006) 1408–1414. doi:10.1021/nl060394d.
- [155] A. Nunes, K. Al-Jamal, T. Nakajima, M. Hariz, K. Kostarelos, Application of carbon nanotubes in neurology: clinical perspectives and toxicological risks, *Arch. Toxicol.* 86 (7) (2012) 1009–1020. doi:10.1007/s00204-012-0860-0.
- [156] S.D. Skaper, The biology of neurotrophins, signaling pathways, and functional peptide mimetics of neurotrophins and their receptors, *CNS Neurological Disorders-Drug Targets* 7 (1) (2008) 46–62. doi:10.2174/187152708783885174.
- [157] V. Kuzmenko, T. Kalogeropoulos, J. Thunberg, et al., Enhanced growth of neural networks on conductive cellulose-derived nanofibrous scaffolds, *Mater. Sci. Eng. C* 58 (2016) 14–23. doi:10.1016/j.msec.2015.08.012.
- [158] D. Zhao, D. Alizadeh, L. Zhang, et al., Carbon nanotubes enhance CpG uptake and potentiate antglioma immunity, *Clin. Cancer Res.* 17 (4) (2011) 771–782. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2444.
- [159] S.L. Edwards, J.A. Werkmeister, J.A.M. Ramshaw, Carbon nanotubes in scaffolds for tissue engineering, *Expert Rev. Med. Devices* 6 (5) (2009) 499–505. doi:10.1586/erd.09.29.
- [160] C. Fisher, A.E. Rider, Z. Jun Han, S. Kumar, I. Levchenko, K. Ostrikov, Applications and nanotoxicity of carbon nanotubes and graphene in biomedicine, *J. Nanomater.* 2012 (2012) 19 pages. doi:10.1155/2012/315185 Article ID 315185.
- [161] K.K. Bokara, J.Y. Kim, Y.I. Lee, K. Yun, T.J. Webster, J.E. Lee, Biocompatibility of carbon nanotubes with stem cells to treat CNS injuries, *Anatomy Cell Biol.* 46 (2) (2013) 85–92. doi:10.5115/acb.2013.46.2.85.
- [162] Y. Nho, J.Y. Kim, D. Khang, T.J. Webster, J.E. Lee, Adsorption of mesenchymal stem cells and cortical neural stem cells on carbon nanotube/poly-carbonate urethane, *Nano-medicine* 5 (3) (2010) 409–417. doi:10.2217/nnm.10.16.
- [163] J. Stockwell, N. Abdi, X. Lu, O. Maheshwari, C. Taghibiglou, Novel central nervous system drug delivery systems, *Chem. Biol. Drug Design* 83 (5) (2014) 507–520. doi:10.1111/cbdd.12268.
- [164] S.A. Pathan, Z. Iqbal, S.M.A. Zaidi, et al., CNS drug delivery systems: novel approaches, *Recent Patents Drug Del. Formul.* 3 (1) (2009) 71–89. doi:10.2174/187221109787158355.
- [165] S.U. Moon, J. Kim, K.K. Bokara, et al., Carbon nanotubes impregnated with subventricular zone neural progenitor cells promotes recovery from stroke, *Int. J. Nanomed.* 7 (2012) 2751–2765. doi:10.2147/IJN.S30273.
- [166] J.T.-W. Wang, K.T. Al-Jamal, Functionalized carbon nanotubes: revolution in brain delivery, *Nanomedicine* 10 (17) (2015) 2639–2642. doi:10.2217/nnm.15.114.
- [167] J.A. Roman, T.L. Niedzielko, R.C. Haddon, V. Parpura, C.L. Floyd, Single-walled carbon nanotubes chemically functionalized with polyethylene glycol promote tissue repair in a rat model of spinal cord injury, *J. Neurotrauma* 28 (11) (2011) 2349–2362. doi:10.1089/neu.2010.1409.
- [168] P.A. Tran, L. Zhang, T.J. Webster, Carbon nanofibers and carbon nanotubes in regenerative medicine, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61 (12) (2009) 1097–1114. doi:10.1016/j.addr.2009.07.010.
- [169] M.P. Mattson, R.C. Haddon, A.M. Rao, Molecular functionalization of carbon nanotubes and use as substrates for neuronal growth, *J. Mol. Neurosci.* 14 (3) (2000) 175–182. doi:10.1385/JMN:14:3:175.
- [170] W. Shao, P. Arghya, M. Yiyong, L. Rhodes, S. Prakash, Carbon nanotubes for use in medicine: potentials and limitations, in: S. Suzuki (Eds.), *Syntheses and Applications of Carbon Nanotubes and Their Composites*, InTech, Rijeka, Croatia, 2013, pp. 285–311. doi:10.5772/51785 Chapter 13.
- [171] B.S. Wong, S.L. Yoong, A. Jagusiak, et al., Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65 (15) (2013) 1964–2015. doi:10.1016/j.addr.2013.08.005.
- [172] A. Nokhodchi, S. Raja, P. Patel, K. Asare-Addo, The role of oral controlled release matrix tablets in drug delivery systems, *BiolImpacts* 2 (4) (2012) 175–187. doi:10.5681/bi.2012.027.
- [173] D.L. Kirkpatrick, M. Weiss, A. Naumov, G. Bartholomeusz, R.B. Weisman, O. Gliko, Carbon nanotubes: solution for the therapeutic delivery of siRNA?, *Materials* 5 (12) (2012) 278–301. doi:10.3390/ma5020278.
- [174] P. Kesharwani, V. Gajbhiye, N.K. Jain, A review of nanocarriers for the delivery of small interfering

- RNA, *Biomaterials* 33 (29) (2012) 7138–7150. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.06.068.
- [175] D. Wang, L. Chen, Temperature and pH-responsive single-walled carbon nanotube dispersions, *Nano Lett.* 7 (6) (2007) 1480–1484. doi:10.1021/nl070172v.
- [176] S. Kushwaha, A. Rastogi, A. Rai, S. Singh, Novel drug delivery system for anticancer drug: a review, *Int. J. PharmTech Res.* 4 (2) (2012) 542–553. doi:10.2174/156720110791011783.
- [177] H. He, L.A. Pham-Huy, P. Dramou, D. Xiao, P. Zuo, C. Pham-Huy, Carbon nanotubes: applications in pharmacy and medicine, *BioMed Res. Int.* 2013 (2013). doi:10.1155/2013/578290 Article ID 578290, 12 pages.
- [178] O. Vittorio, S.L. Duce, V. Raffa, A. Cuschieri, Imaging and Biomedical Application of Magnetic Carbon Nanotubes, *InTech*, Rijeka, 2009. doi:10.5772/16633 Croatia.
- [179] C. Yang, M.E. Denno, P. Pyakurel, B.J. Venton, Recent trends in carbon nanomaterial-based electrochemical sensors for biomolecules: a review, *Analyt. Chim. Acta* 887 (2015) 17–37. doi:10.1016/j.aca.2015.05.049.
- [180] R. Ellis-Behnke, Nano neurology and the four P's of central nervous system regeneration: preserve, permit, promote, plasticity, *Med. Clin. North Am.* 91 (5) (2007) 937–962. doi:10.1016/j.mcna.2007.04.005.
- [181] P.P. Komane, Y.E. Choonara, L. du Toit, P. Kumar, P.P.D. Kondiah, G. Modi, V. Pillay, Diagnosis and Treatment of Neurological and Ischemic Disorders Employing Carbon Nanotube Technology, *J. Nanomater.* 2016 (2016), Article ID 9417874, 19 pages.

