

Toto PDF obsahuje kapitolu z knihy:
Zdeněk Fiala, Drahomíra Holmannová (ed.):
Uhlíkové nanomateriály. Biomedicínské aplikace a toxicita,
Praha: Karolinum 2025,
<https://doi.org/10.14712/9788024659848>.

8. Neurotoxická

(Zdeněk Fiala, Drahomíra Holmannová)

© Univerzita Karlova, 2025

© Zdeněk Fiala, Drahomíra Holmannová, 2025

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

<https://doi.org/10.14712/9788024659848.8>

8 NEUROTOXICITA

Uhlíkové nanomateriály (CNM) mohou pronikat i do centrální nervové soustavy (CNS). Hlavními penetračními cestami jsou systémová cirkulace a horní cesty dýchací (primárně nosní dutina). Translokace přes hematoencefalickou bariéru (HEB) je významně ovlivňována fyzikálně-chemickými vlastnostmi CNM a jejich funkcionalizací. Přes tuto bariéru, která má za fyziologických podmínek velmi malou permeabilitu, prostupují snadněji velmi malé hydrofobní CNM. V HEB mohou CNM indukovat zánětlivou odpověď, poškozovat endotel a zvyšovat její permeabilitu, a to zejména v těch oblastech, kde je HEB více fenestrována a osídlená perivaskulárními mikroglie (tyto buňky po stimulaci CNM produkují prozánětlivé cytokiny). Uhlíkové nanočástice mohou také narušovat mezibuněčné spoje a prostupovat do CNS paracelulárně. Mezi další translokační cesty lze zařadit endocytózu a penetraci CNM do buněk bez narušení integrity jejich buněčné membrány (transcelulární transport). Po průniku CNM do CNS může docházet k jejich kumulaci v různých mozkových kompartmentech. Variabilita míry kumulace (podle kompartmentů) je přitom opět významně ovlivňována fyzikálně-chemickými vlastnostmi a funkcionalizací CNM.¹⁻³

V případech, kdy CNM vstupují do CNS cestou přes horní cesty dýchací (nosní dutinu), musí nejdříve překonat bariéru mukociliárního systému, transcelulárně nebo paracelulárně přestoupit přes vrstvu slizničních buněk a pomocí vazby na receptor penetrovat do neuronů v nosní sliznici. Podél axonů pak CNM prostupují (transcelulárně nebo extracelulárně) z čichového a/nebo trojklanného nervu až do CNS, kde vlivem CNM dochází k nežádoucím reakcím a k poškozování nervové tkáně.⁴⁻⁶ Dostupné literární zdroje dokládají, že CNM mohou indukovat neurozánětlivou odpověď a zvyšovat hladinu oxidačního stresu. Oba uvedené děje mají přímou vazbu na neurodegenerativní procesy, spojené s narušováním kognitivních a paměťových funkcí. Nutno však doplnit, že některé CNM naopak oxidační stres snižují, redukuje produkci amyloidu a podporují neurogenezi.⁷

8.1 IN VITRO STUDIE

Výsledky *in vitro* studií dokládají prozánětlivý charakter expozice CNM, nárůst hladiny volných kyslíkových radikálů (ROS), snížení viability buněk a indukci apoptózy. Některé druhy CNM sice nevykazují přímou toxicitu, nicméně mohou významně zasahovat do fyziologických pochodů v buňkách a narušit jejich funkce.

Wang et al. prezentovali studie, ve kterých vystavili buněčnou kulturu PC12 (buňky feochromocytomu) expozici nefunkcionalizovaným jednovrstvým uhlíkovým nanotrubicím (SWCNT). SWCNT zvyšovaly (v závislosti na dávce a době inkubace; 0–400 µg/ml / 24–48 h) míru oxidačního stresu (produkce volných kyslíkových radikálů; ROS), což se projevilo výrazným poklesem hodnot glutathionu a aktivity glutathionperoxidázy a superoxid-dismutázy, poškozením buněčné membrány, redukcí membránového potenciálu mitochondrií a snížením buněčné viability.^{8,9} K podobným výsledkům došli i Vaniyamparambath Vijayalaxmi, Bindu Sadanandan a Anjanapura Raghu, kteří exponovali buněčnou kulturu LN18 (lidské neurony) nefunkcionalizovaným a karboxylovaným SWCNT (5, 10, 20, 40 µg/ml / 0–48 h). Oba typy SWCNT při expoziční koncentraci 40 µg/ml významně zvyšovaly produkci ROS (po dobu 6 hodin) a hladinu malondialdehydu (po dobu 24 a 47 hodin).¹⁰ Neurotoxicitu prokázali rovněž autoři Visalli et al., kteří srovnávali účinky nefunkcionalizovaných a karboxylovaných mnohovrstvých nanotrubic (MWCNT) na buněčnou kulturu SH-SY5 (lidské linie neuroblastomu). Buňky byly exponovány koncentracím 12,5 a 25 µg/ml po dobu až 24 hodin. V závislosti na koncentraci a čase bylo zjištěno poškození DNA, snížení buněčné viability, zvýšení produkce ROS a zvýšení exprese prozánětlivých cytokinů TNF α , IL-1 β a IL-6. Vyšší míru toxicity vykazovaly nefunkcionalizované MWCNT, funkcionalizace může negativní vliv MWCNT zmírnit.¹¹

Bussy et al. porovnali neurotoxicitu čtyř forem MWCNT (bez funkcionalizace a funkcionalizované ox-MWNT, ox-MWNTNH₃⁺ a MWNT-NH₃⁺; koncentrace 5–50 µg/ml). Exponovány byly primární neurální a gliové buňky izolované z fetálního krysího frontálního kortexu a ze striata. Žádná z testovaných forem MWCNT nevykazovala účinky na neurony obou částí CNS a na gliové buňky z frontální oblasti. V případě gliových buněk ze striata byla zjištěna snížená buněčná viabilita (snížení závislé na dávce). V komplexní gliové kultuře (v níž byly zastoupeny také mikroglie a astrocyty) došlo vlivem expozice k aktivaci mikroglíí (zvýšení exprese CD11b/c), které efektivněji pohlcovaly všechny formy MWCNT a produkovaly vyšší množství oxidu dusnatého než astrocyty. Nejvyšší produkce oxidu dusnatého byla zjištěna po expozici ox-MWNTNH₃⁺.¹² Při zmínce o mikroglíích by neměla být opomenuta studie autorů Li et al., ve které expozice jednovrstvým nanorohům (CNH) inhibovala proliferaci a indukovala apoptózu u kultury myších mikroglíí.¹³ Také autoři Villegas et al. popsali interferenci MWCNT s funkcemi mikroglíí. Interference měla za následek omezení jejich fagocytární aktivity a migrace.¹⁴ Inhibiční vliv MWCNT na funkce mikroglíí může mít ve výsledku pozitivní charakter, protože mikroglie patří k buňkám, které jsou zodpovědné za záněty a poškození CNS.

Proběhlo též mnoho experimentů s dalšími CNM. Studie autorů Larner et al. byla zaměřena na testování potenciálního neurotoxického vlivu několika druhů CNM na buněčnou kulturu PC-12. Buněčná linie PC-12 je odvozená z feochromocytomu dřeně nadledvin potkanů: po ošetření nervovým růstovým faktorem se buňky PC-12 přestanou množit a podstoupí konečnou diferenciaci a tím je vytvořen vhodný modelový systém pro studium diferenciaci nervových buněk. Ve studii byly testovány SWCNT (10–100 µg/ml), fulleren (C₆₀; 100 µg/ml) a nanosaze (*nano carbon black*; nano-CB; 10–100 µg/ml). Vyšší koncentrace CNM zvyšovaly tvorbu štěpných produktů α -II-spektrinu (ukazatele narušení buněčného cytoskeletu a buněčné smrti) a indukovaly kontrakce buněčné membrány a tvorbu vakuol v cytosolu. Diferencované buňky byly v porovnání s nediferencovanými obecně vnímavější k cytotoxickému (neurotoxickému) účinku testovaných CNM.¹⁵ Pokud se jedná o nano-CB, nabízí se zmínit ještě práci Jianga et al., v níž expozice buněčné linie PC-12 nano-CB (dávky 0,6 až 6 µg/cm² / 24 hodin)

vedla ke zvýšení produkce ROS, k nárůstu endoplazmaticko-retikulárního stresu a ke snížení aktivit antioxidantních enzymů superoxiddismutázy a glutathionperoxidázy.¹⁶

Velmi často zkoumaným materiálem z pohledu toxicity je grafen a od něj odvozené materiály, čemuž se věnovaly následující příspěvky. Ku příkladu autoři Bramini et al. inkubovali primární astrocyty s vícevrstevným grafenem (FLG) a oxidem grafenu (GO) o koncentracích 1 a 10 µg/ml (24–72 hodin nebo 7 dní). Expozice uvedeným CNM nesnižovala buněčnou viabilitu či proliferaci, měla však za následek narušení metabolismu cholesterolu. To se projevilo nárůstem jeho množství v membráně. Také byly pozorovány změny koncentrací intracelulárního vápníku, vedoucí k narušování vzniku spontánních či evokovaných signálů. V reálné situaci může tento jev ovlivňovat fyziologické interakce mezi astrocyty a neurony.¹⁷

Astrocyty a GO použili ve své studii také autoři Rudnytska et al. Byly hodnoceny změny v genové expresi astrocytů (mRNA NAMPT, TSPAN13, BCAR3, BRCA1, PTGS2, P4HA1, P4HA2, miRNA96-5p a miRNA145-5p) po vystavení koncentracím 1 a 4 ng GO/ml po dobu 24 hodin. Autoři uvádějí, že expozice způsobovala deregulaci exprese vybraných genů; suprimovala expresi NAMPT, BCAR3 a TSPAN13, a naopak indukovala expresi BRCA1, PTGS2, P4HA1 a P4HA2. Bylo rovněž pozorováno snížení exprese vybraných miRNA. Z výsledků je zřejmé, že GO zasahuje do exprese astrocytárních genů a může tak ovlivňovat funkce astrocytů.¹⁸ Chiacchiaretta et al. inkubovali primární myši astrocyty s grafenem a s GO (10 µg/ml / 24 nebo 72 hodin, po dobu 7 dní). Expozice oběma uvedeným CNM vedla k buněčné internalizaci nanočástic s následnými morfologickými změnami a přestavbami cytoskeletu. Významnější změny indukoval GO, který hyperpolarizoval klidový membránový potenciál a zvyšoval vodivost, expresi Kir4.1 (*glial ATP-dependent inwardly rectifying potassium channel*) a „uptake“ glutamátu, což mělo významný vliv na fyziologické funkce astrocytů a na jejich interakce s ostatními nervovými buňkami.¹⁹

Zajímavé jsou výsledky *in vitro* studií s využitím organoidů. Organoid je miniaturizovaná a zjednodušená verze orgánu (forma *in vitro*), která vykazuje realistickou mikroanatomii. Bývá odvozen z tkáňových buněk, embryonálních kmenových buněk nebo indukovaných pluripotentních kmenových buněk. Autoři Liu et al. exponovali trojrozměrný organoid mozku GO (50 µg/ml). Expozice působila cytotoxicky, ale nezvyšovala produkci toxického superoxidového iontu. Pomocí RNA sekvenování bylo zjištěno, že expozice GO zvýšila expresi 80 genů a snížila expresi 121 genů. Vzhledem ke skutečnosti, že se ve většině případů jednalo o geny související s fyziologií metabolických cest (včetně lipidového metabolismu), vedl uvedený scénář rovněž k narušení lipidomu.²⁰

Výše uvedené studie ve většině případů potvrzují cytotoxický účinek CNM. Ten sice může nervovou soustavu poškozovat, na druhou stranu by mohl být využit při léčbě nádorových a neurodegenerativních onemocnění CNS. V kapitole „Biomedicínské využití uhlíkových nanomateriálů“ byly uvedeny příklady transportu léčiv (pomocí CNM) do specifických tělních kompartmentů. Tímto postupem lze zvyšovat efektivitu podané dávky a omezovat nežádoucí systémové účinky. Z pohledu nádorových onemocnění CNS se jako vhodný kandidát na nosiče léčiv jeví MWCNT, které po funkcionalizaci snadno penetrují přes HEB.

Navzdory mnoha pokrokům v diagnostice mozkových nádorů zatím neexistuje účinná léčba glioblastomu. Zdá se, že použití MWCNT by při řešení tohoto problému mohlo významně pomoci. Například autoři Romano-Feinholz et al. exponovali potkaní astrocyty a buňky gliomu RG2 temozolimidu v kombinaci s nefunkcionalizovaným (nedopovaným) MWCNT a dusíkem dopovanými MWCNT o koncentracích 10–100 µg/ml. U nádorových buněk působily všechny MWCNT jako velmi silné adjuvans a podpořily účinnost temozolimidu.

Z výsledků vyplývá, že míra buněčné smrti byla při expozici kombinaci dusíkem dopovanými MWCN a temozolimidu dvojnásobně vyšší než při expozici nedopovanými MWCNT a temozolimidem.²¹ V jiných dvou studiích bylo zjištěno, že expozice grafenu (20–200 µg/ml a 5–100 µg/ml) zvyšuje produkci ROS, snižuje viabilitu a indukuje apoptózu u U87 a U118 glioblastomových buněk.^{22,23}

Martínez-Herrera et al. studovali účinnost fullerenu při inhibici agregace amyloidu β , který vytváří plaky spojované s iniciací a progresí Alzheimerovy nemoci. Modifikované fullereny (multiadukty s 4 až 6 diethylmalonyly) modulovaly produkci amyloidových fibril a agregátů (bez projevů cytotoxicity vůči nervovým buňkám) a snižovaly hladinu oxidačního stresu. Výsledky naznačují, že modifikovaný fullerene by mohl najít využití v léčbě Alzheimerovy nemoci.²⁴

Vedle využití CNM v oblasti léčby nádorových a neurodegenerativních onemocnění CNS je nutno zmínit také možnost jejich využití v oblasti regenerace nervové tkáně. Studie v odborné literatuře dokladují, že použití scaffoldů z grafenu, GO či MWCNT podporuje diferenciaci kmenových buněk do nervových buněk, posiluje jejich proliferaci, růst axonů, formování synapsí a přenos signálů.^{25,26}

8.2 IN VIVO STUDIE

Výsledky *in vivo* studií (zaměřených na účinky CNM) jsou ve většině případů ve shodě s výsledky studií *in vitro*. Byla potvrzena vývojová neurotoxicita (více v kapitole „Reprodukční a vývojová toxicita“), narušování HEB (zvýšení její permeability), nárůst hladiny ROS a indukce a zesílení zánětové reakce.

Autorské kolektivy Maria Aragon a Ekateriny Mostovenko například popsaly zvýšenou permeabilitu HEB u experimentálních zvířat exponovaných MWCNT. V obou těchto studiích byly myši vystaveny expozici MWCNT (orofaryngeální aspirace, 10 nebo 40 µg/zvíře). V první zmíněné studii byla po čtyřech hodinách od aplikace MWCNT pozorována zánětlivá reakce, která se podílela na zvyšování permeability HEB a indukci reaktivní astrocytózy. V séru byly zjištěny zvýšené hodnoty trombospodinu 1. Vyšší dávky MWCNT vedly ke tvorbě „astrogliálních jizev“ v CNS a aktivaci mikroglíí. Autoři druhé studie zkoumali navíc i peptidom mozkomíšního moku a séra. Vlivem expozice MWCNT se významně měnily koncentrace peptidů zapojených do fibrinolýzy (fibrinopeptid A) a souvisejících s poškozením HEB (homeobox protein A4) a se zánětem v CNS (transmembránový protein 131L). Ve všech případech se jednalo o ukazatele aktivace astrocytů a mikroglíí a ukazatele neurodegenerativních procesů a nerovnováhy mezi excitací a inhibicí (došlo ke vzniku „hyperexcitovaného fenotypu“). Uvedené změny jsou charakteristické pro raná stadia neurodegenerativních onemocnění.^{27,28}

Autorské kolektivy Aragona i Mostovenko například popsali zvýšenou permeabilitu HEB u experimentálních zvířat exponovaných MWCNT. V obou jejich studiích byly myši vystaveny expozici MWCNT (orofaryngeální aspirace, 10 nebo 40 µg/zvíře). Ve studii Aragonova týmu byla po čtyřech hodinách od aplikace MWCNT pozorována zánětlivá reakce, která se podílela na zvyšování permeability HEB a indukci reaktivní astrocytózy. V séru byly zjištěny zvýšené hodnoty trombospodinu 1. Vyšší dávky MWCNT vedly ke tvorbě „astrogliálních jizev“ v CNS a rekrutování mikroglíí. Tvůrci druhé studie zkoumali navíc i peptidom mozkomíšního moku a séra. Vlivem expozice MWCNT se významně měnily koncentrace peptidů zapojených do fibrinolýzy (fibrinopeptid A) a souvisejících s poškozením HEB (homeobox

protein A4) a se zánětem v CNS (transmembránový protein 131L). Ve všech případech se jednalo o ukazatele aktivace astrocytů a mikroglíí a ukazatele degenerativních procesů a nerovnováhy mezi excitací a inhibicí (došlo ke vzniku „hyperexcitovaného fenotypu“). Uvedené změny jsou charakteristické pro raná stadia neurodegenerativních onemocnění.^{27,28}

Kromě myši se prováděly také studie na potkanech. Autoři Gao et al. aplikovali potkanům po dobu 14 dnů intraperitoneálně MWCNT v dávce 2,5 mg/kg/den a MWCNT s chlorochinem v dávce 20 mg/kg/den. Vlivem obou expozičních dozů došlo u potkanů ke kognitivnímu deficitu a histopatologickým změnám v CNS. Zvýšení autofagické aktivity mikroglíí po expozici MWCNT vedlo ke snížení synapsí, a tedy i funkčním změnám v CNS. Tento jev nebyl pozorován po expozici MWCNT s chlorochinem, který autofagie blokoval.²⁹

Jelikož se CNM mohou kumulovat také ve vodním prostředí, provádí se studie také s vodními organismy. Autoři Deepa et al. zvolili jako modelový objekt kapra obecného. Ryby byly exponovány koncentracím SWCNT 10 a 50 µg/l po dobu 7 dní. Expozice měla za následek indukci antioxidantních enzymů (glutathion-S-transferázy, superoxid dismutázy a katalázy) a narušení mozkových funkcí.²⁴

V průběhu prenatálního vývoje jsou tělní buňky extrémně citlivé na externí a interní faktory (včetně CNM), které touto cestou mohou narušovat vývoj tkání i celého organismu. Některé studie potvrzují, že CNM mohou v prenatálním období ohrožovat i nervovou tkáň. K testování prenatálního rizika expozice CNM bývají často používány zárodky ryby dánie pruhovaného. Například Manjunatha et al. exponovali zárodky a mladé jedince dánie pruhovaného grafenu (5–25 µg/l) a GO (0,1–0,4 mg/ml). Vlivem expozice došlo ke kumulaci obou CNM v mozkové tkáni. Byly popsány změny délky axonů, změny v myelinizaci a celkové narušení axonální integrity.³⁰ V experimentu autorů Caa et al. byly zárodky dánie pruhovaného vystaveny účinkům karboxylovaného GO (10, 50, 100 mg/l). Expozice měla za následek neurologické vývojové defekty spojené se zvýšenou aktivitou acetylcholinesterázy a ATPázy. Došlo k významnému zvýšení hladiny oxidačního stresu a ke změnám exprese genů, které mají důležitou roli v neuro-vývoji (NEUROG1 a GAP43) a ovlivňují produkci neurotransmiterů. Rovněž byly narušeny neurotransmiterové cesty využívající GABA, dopamin a glutamát (došlo ke snížení exprese GLUD1 a GABRA1 a ke zvýšení exprese GAT1 a ABAT). Zajímavou skutečností je, že došlo ke změnám expresí genů, které jsou spojovány s Parkinsonovou nemocí (snížení exprese TH, DCTN1 a DJ1 a zvýšení exprese PINK1). Uvedené změny vedly k výraznému narušení mobility zárodků.³¹

Xiangang Hu, Zhong Wei a Li Mu testovali neurotoxické účinky GO u dospělých jedinců dánie pruhovaných a jejich potomků, které exponovali koncentracím 0,01–1 µg GO / l vody. Částice GO translokovaly z vody do CNS všech jedinců, což vedlo k významnému poklesu hladiny proteinu Cldn5a, který je klíčovou součástí neuroepitelového bariérového systému. Zatímco u dospělých jedinců nebyly zjištěny známky neurotoxicity, u jejich potomků došlo ke snížení počtu neurodopaminergních neuronů a redukcii acetylcholinesterázové aktivity. Byla též zaznamenána zvýšená hladina endoplazmaticko-retikulárního stresu, zvýšená autofagie a zvýšené hladiny ukazatelů souvisejících se stárnutím (například nárůst β-galaktosidázové aktivity).³² Na rozdíl od výše uvedených Hua, Weie a Mua, kteří známky neurotoxicity u dospělých jedinců dánie pruhovaného nenalezli, autorský kolektiv Audira et al. tyto účinky popsal. Po subchronické expozici (14 dnů) grafenu (0,1 a 0,5 ppm) a GO (0,1 a 1 ppm) došlo v CNS k nárůstu produkce ROS, k narušení lokomoční aktivity a k narušení schopnosti vyhýbat se predátorům. Expozice grafenu navíc snižovala koncentrace serotoninu, acetylcholinu, dopaminu a kortizolu.³³

Prenatální neurotoxicita CNM byla testována také na savcích. Atsuto Onoda, Ken Takeda a Masakazu Umezawa aplikovali gravidním myším intranazálně (na nosní sliznici) CB v dávkách 2,9, 15 a 73 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a sledovali vliv této expozice na vývoj kortexu mláďat. Z výsledků vyplývá, že v kortexu a v oblastech okolo cév v CNS došlo k nárůstu exprese GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) a akvaporinu 4. Změna v expresi korespondovala s analogickou expresí u starších zvířat. Souběžně byly pozorovány změny expresí mRNA spojených s angiogenezí, buněčnou migrací, proliferací, chemotaxí a produkcí růstových faktorů. Je zřejmé, že vystavení matky CB zvyšuje riziko nástupu neurodegenerativních onemocnění u potomků.³⁴

V novější studii stejných autorů byla popsána rovněž vývojová neurotoxicita CB a mechanismus, který je pravděpodobně zodpovědný za poškození. Vystavení mateřského organismu CB vedlo ke zvýšení endoplazmaticko-retikulárního stresu a kumulaci defektních a poškozených proteinů u potomků. Nejvyšší míra stresu byla zachycena v perivaskulárních makrofázích a astrocytech.³⁵

Funkcionalizace CNM může výrazně měnit vlastnosti těchto materiálů, a to včetně jejich toxicity vůči tkáním, včetně nervového systému. Toxicita může být omezena, či naopak potencionována. Autoři Altwajri et al. exponovali myši účinkům GO funkcionalizovaného polyethylenglykolem (GO-PEG). Látka byla aplikována intravenózně do ocasní žíly v dávce 5 mg/kg. Po jedné a dvou hodinách od aplikace byla zjištěna fragmentace DNA (jedno- i dvouřetězcové zlomy), nicméně, po 4 hodinách byla DNA již reparována. Histopatologické vyšetření exponovaných zvířat (po 1 a 2 hodinách od aplikace) odhalilo apoptózy a léze v CNS. Po 4 hodinách byl také patrný zánět a chromatolýza. Z výsledků je zřejmé, že GO-PEG mohou vyvolávat poškození CNS podobně, jako to vidíme u nefunkcionalizovaných GO.³⁶

Závěrem ještě zmíníme neurotoxicitu fullerenu (C_{60}) a nanodiamantů (ND). Neurotoxicitu C_{60} studovali například Kreamer et al. V experimentu použili C_{60} o dvou různých průměrech (≤ 200 a ≤ 450 nm), který injikovali potkanům přímo do hipokampu. Expozice oběma fullerenu vedla k narušení prostorové paměti, snížení BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) a k nárůstu oxidačního stresu. Vyšší míra toxických účinků byla pozorována u C_{60} o průměru ≤ 450 nm.³⁷ Autoři Khosravi et al. exponovali myši inhalačně ND (3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 3 hodiny denně, 5 dní v týdnu po dobu 30 dní). Podané ND se kumulovaly v plicích, srdci a mozku. Ve všech uvedených tkáních byla zjištěna zvýšená míra oxidačního stresu, narušení mitochondriálních membrán a snížená hladina glutathionu.³⁸

Závěrem nutno zmínit i některé pozitivní účinky CNM na CNS. Například autoři Soligo et al. popsali experiment, ve kterém MWCNT, intranazálně podané potkanům, pronikaly do různých oblastí mozku (bulbus olfactorius, striatum, oblast septa, talamus, hypotalamus a hipokampus) a zvyšovaly produkci neurálního růstového faktoru, což posilovalo regenerační procesy v CNS.³⁹

8.3 ZÁVĚR

Centrální nervová soustava je pro nás lidi naprosto krucální. Její poškození spojené s poruchou mozkových funkcí nám výrazně snižuje kvalitu života. Je proto důležité sledovat neurotoxicitu CNM. Výsledky studií, které proběhly *in vitro* i *in vivo*, naznačují, že některé typy CNM mají potenciál poškodovat CNS. Jako u ostatních orgánových systému je poškození CNS spojené hlavně s indukci chronického poškozujícího zánětu a oxidačním stresem. Ve studiích *in vivo* bylo skutečně zachyceno snížení mozkových funkcí u zvířat vystavených

CNM. Musíme ovšem zmínit i fakt, že výsledky nejsou zcela jednoznačné a existují i studie, které prokazují opak. Některé CNM mohou dokonce působit protizánětlivě, snižovat oxidační stres a podporovat regeneraci CNS. Je tedy potřeba provést další studie, které by naše znalosti dále rozšířily.

8.4 LITERATURA

1. Kafa H, Wang JTW, Rubio N et al. Translocation of LRP1 Targeted Carbon Nanotubes of Different Diameters Across the Blood–Brain Barrier In Vitro and In Vivo. *J Control Release*. 2016;225:217. doi:10.1016/J.JCONREL.2016.01.031.
2. Wang JTW, Rubio N, Kafa H et al. Kinetics of Functionalised Carbon Nanotube Distribution in Mouse Brain After Systemic Injection: Spatial to Ultra-Structural Analyses. *J Control Release*. 2016;224:22. doi:10.1016/J.JCONREL.2015.12.039.
3. Gonzalez-Carter D, Goode AE, Kiryushko D et al. Quantification of Blood-Brain Barrier Transport and Neuronal Toxicity of Unlabelled Multiwalled Carbon Nanotubes as a Function of Surface Charge. *Nanoscale*. 2019;11(45):22054–22069. doi:10.1039/c9nr02866h.
4. Newman L, Rodrigues AF, Jasim DA et al. Nose-to-Brain Translocation and Cerebral Biodegradation of Thin Graphene Oxide Nanosheets. *Cell Rep Phys Sci*. 2020;1(9):100176. doi:10.1016/j.xcrp.2020.100176.
5. Crowe TP, Greenlee MHW, Kanthasamy AG, Hsu WH. Mechanism of Intranasal Drug Delivery Directly to the Brain. *Life Sci*. 2018;195:44–52. doi:10.1016/j.lfs.2017.12.025.
6. Selvaraj K, Gowthamarajan K, Karri VVSR. Nose to Brain Transport Pathways An Overview: Potential of Nanostructured Lipid Carriers in Nose to Brain Targeting. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;46(8):2088–2095. doi:10.1080/21691401.2017.1420073.
7. Redondo-Gómez C, Leandro-Mora R, Blanch-Bermúdez D et al. Recent Advances in Carbon Nanotubes for Nervous Tissue Regeneration. *Adv Polym Technol*. 2020;2020:1–16. doi:10.1155/2020/6861205.
8. Wang J, Sun P, Bao Y, Liu J, An L. Cytotoxicity of Single-Walled Carbon Nanotubes on PC12 Cells. *Toxicol Vitro*. 2011;25(1):242–250. doi:10.1016/j.tiv.2010.11.010.
9. Wang J, Sun P, Bao Y et al. Vitamin E Renders Protection to PC12 Cells Against Oxidative Damage and Apoptosis Induced by Single-Walled Carbon Nanotubes. *Toxicol Vitro*. 2012;26(1):32–41. doi:10.1016/J.TIV.2011.10.004.
10. Vijayalakshmi V, Sadanandan B, Venkataramanaiah Raghu A. Single Walled Carbon Nanotubes in High Concentrations is Cytotoxic to the Human Neuronal Cell LN18. *Results Chem*. 2022;4:100484. doi:10.1016/J.RECHEM.2022.100484.
11. Visalli G, Currò M, Iannazzo D et al. In Vitro Assessment of Neurotoxicity and Neuroinflammation of Homemade MWCNTs. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2017;56:121–128. doi:10.1016/J.ETAP.2017.09.005.
12. Bussy C, Al-Jamal KT, Boczkowski J et al. Microglia Determine Brain Region-Specific Neurotoxic Responses to Chemically Functionalized Carbon Nanotubes. *ACS Nano*. 2015;9(8):7815–7830. doi:10.1021/ACS.NANO.5B02358.
13. Li L, Zhang J, Yang Y et al. Single-Wall Carbon Nanohorns Inhibited Activation of Microglia Induced by Lipopolysaccharide Through Blocking of Sirt3. *Nanoscale Res Lett*. 2013;8(1):1–13. doi:10.1186/1556-276X-8-100.
14. Villegas JC, Álvarez-Montes L, Rodríguez-Fernández L, González J, Valiente R, Fanarraga ML. Multiwalled Carbon Nanotubes Hinder Microglia Function Interfering With Cell Migration and Phagocytosis. *Adv Healthc Mater*. 2014;3(3):424–432. doi:10.1002/adhm.201300178.

15. Lerner SF, Wang J, Goodman J, O'Donoghue Altman MB, Xin M, Wang KKW. In Vitro Neurotoxicity Resulting From Exposure of Cultured Neural Cells to Several Types of Nanoparticles. *J Cell Death*. 2017;10:1179670717694523. doi:10.1177/1179670717694523.
16. Jiang L, Wang T, Xue J, Yu P, Zhang J, Wang J. Nanosized Carbon Black Exposure Induces Neural Injury: Effects on Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidases and Endoplasmic Reticulum Stress. *J Appl Toxicol*. 2019;39(8):1108–1117. doi:10.1002/jat.3796.
17. Bramini M, Chiacchiaretta M, Armirotti A et al. An Increase in Membrane Cholesterol by Graphene Oxide Disrupts Calcium Homeostasis in Primary Astrocytes. *Small*. 2019;15(15):1900147. doi:10.1002/smll.201900147.
18. Rudnytska OV, Kulish YV, Khita OO et al. Exposure to Nanographene Oxide Induces Gene Expression Dysregulation in Normal Human Astrocytes. *Endocr Regul*. 2022;56(3):216–226. doi:10.2478/ENR-2022-0023.
19. Chiacchiaretta M, Bramini M, Rocchi A et al. Graphene Oxide Upregulates the Homeostatic Functions of Primary Astrocytes and Modulates Astrocyte-to-Neuron Communication. *Nano Lett*. 2018;18(9):5827–5838. doi:10.1021/acs.nanolett.8b02487.
20. Liu X, Yang C, Chen P, Zhang L, Cao Y. The Uses of Transcriptomics and Lipidomics Indicated That Direct Contact With Graphene Oxide Altered Lipid Homeostasis Through ER Stress in 3D Human Brain Organoids. *Sci Total Environ*. 2022;849:157815. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2022.157815.
21. Romano-Feinholz S, Salazar-Ramiro A, Muñoz-Sandoval E et al. Cytotoxicity Induced by Carbon Nanotubes in Experimental Malignant Glioma. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:6005–6026. doi:10.2147/IJN.S139004.
22. Jaworski S, Strojny B, Sawosz E et al. Degradation of Mitochondria and Oxidative Stress as the Main Mechanism of Toxicity of Pristine Graphene on U87 Glioblastoma Cells and Tumors and HS-5 Cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3). doi:10.3390/ijms20030650.
23. Jaworski S, Sawosz E, Grodzik M et al. In Vitro Evaluation of the Effects of Graphene Platelets on Glioblastoma Multiforme Cells. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:413–420. doi:10.2147/IJN.S39456.
24. Deepa S, Mamta SK, Anitha A et al. Exposure of Carbon Nanotubes Affects Testis and Brain of Common Carp. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2022;95:103957. doi:10.1016/j.etap.2022.103957.
25. Qian Y, Wang X, Song J et al. Preclinical Assessment on Neuronal Regeneration in the Injury-Related Microenvironment of Graphene-Based Scaffolds. *npj Regen Med*. 2021;6:31. doi:10.1038/s41536-021-00142-2.
26. Redondo-Gómez C, Leandro-Mora R, Blanch-Bermúdez D et al. Recent Advances in Carbon Nanotubes for Nervous Tissue Regeneration. *Adv Polym Technol*. 2020;2020:6861205. doi:10.1155/2020/6861205.
27. Aragon MJ, Topper L, Tyler CR et al. Serum-Borne Bioactivity Caused by Pulmonary Multiwalled Carbon Nanotubes Induces Neuroinflammation via Blood-Brain Barrier Impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(10): E1968–E1976. doi:10.1073/pnas.1616070114.
28. Mostovenko E, Saunders S, Muldoon PP et al. Carbon Nanotube Exposure Triggers a Cerebral Peptidomic Response: Barrier Compromise, Neuroinflammation, and a Hyperexcited State. *Toxicol Sci*. 2021;182(1):107–119. doi:10.1093/toxsci/kfab042.
29. Gao J, Zhang X, Yu M, Ren G, Yang Z. Cognitive Deficits Induced by Multi-Walled Carbon Nanotubes via the Autophagic Pathway. *Toxicology*. 2015;337:21–29. doi:10.1016/j.tox.2015.08.011.
30. Manjunatha B, Seo E, Park SH et al. Pristine Graphene and Graphene Oxide Induce Multi-Organ Defects in Zebrafish (Danio Rerio) Larvae/Juvenile: An In Vivo Study. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021;28(26):34664–34675. doi:10.1007/s11356-021-13058-7.
31. Cao Z, Su M, Wang H et al. Carboxyl Graphene Oxide Nanoparticles Induce Neurodevelopmental Defects and Locomotor Disorders in Zebrafish Larvae. *Chemosphere*. 2021;270:128611. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128611.
32. Hu X, Wei Z, Mu L. Graphene Oxide Nanosheets at Trace Concentrations Elicit Neurotoxicity in the Offspring of Zebrafish. *Carbon*. 2017;117:182–191. doi:10.1016/J.CARBON.2017.02.092.

33. Audira G, Lee JS, Siregar P et al. Comparison of the Chronic Toxicities of Graphene and Graphene Oxide Toward Adult Zebrafish by Using Biochemical and Phenomic Approaches. *Environ Pollut.* 2021;278:116907. doi:10.1016/j.envpol.2021.116907.
34. Onoda A, Takeda K, Umezawa M. Dose-Dependent Induction of Astrocyte Activation and Reactive Astrogliosis in Mouse Brain Following Maternal Exposure to Carbon Black Nanoparticle. *Part Fibre Toxicol.* 2017;14:4. doi:10.1186/s12989-017-0184-6.
35. Onoda A, Kawasaki T, Tsukiyama K, Takeda K, Umezawa M. Carbon Nanoparticles Induce Endoplasmic Reticulum Stress Around Blood Vessels With Accumulation of Misfolded Proteins in the Developing Brain of Offspring. *Sci Rep.* 2020;10:10028. doi:10.1038/s41598-020-66744-w.
36. Altwaijry N, Ain QT, Alnuwaysir H, Alamro A, Alghamdi A, Haq SH. A Time-Course Evaluation of DNA Damage and Neurotoxicity Induced by PEGylated Graphene Oxide Nanoparticle in Swiss Albino Mice. *J Biomed Nanotechnol.* 2022;18(4):1180–1186. doi:10.1166/JBN.2022.3306.
37. Kraemer ÂB, Parfitt GM, Acosta D da S et al. Fullerene (C60) Particle Size Implications in Neurotoxicity Following Infusion Into the Hippocampi of Wistar Rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2018;338:197–203. doi:10.1016/J.TAAP.2017.11.022.
38. Khosravi Y, Salimi A, Pourahmad J, Naserzadeh P, Seydi E. Inhalation Exposure of Nano Diamond Induced Oxidative Stress in Lung, Heart and Brain. *Xenobiotica.* 2018;48(8):860–866. doi:10.1080/00498254.2017.1367974.
39. Soligo M, Felsani FM, Da Ros T et al. Distribution in the Brain and Possible Neuroprotective Effects of Intranasally Delivered Multi-Walled Carbon Nanotubes. *Nanoscale Adv.* 2021;3(2):418–431. doi:10.1039/d0na00869a.

ZKRATKY

16HBE	lidská bronchiální epiteliální buněčná linie (<i>human bronchial epithelial cells</i>)
3HFWC	hyper-harmonizovaný vodní komplex hydroxylovaného fullerenu C ₆₀
A549	alveolární epiteliální buňky A549 (<i>adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells</i>)
ABCA-1	<i>ATP-binding cassette transporter</i>
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
ARPE-19	imortalizované lidské retinální buňky
AST	aspartátaminotransferáza
BAL	bronchoalveolární laváž
BEAS-2B	imortalizovaná a nenádorová linie lidských plicních epiteliálních buněk (<i>bronchial epithelial cells</i>)
BMEC	mozkové mikrovaskulární endoteliální buňky (<i>bone marrow microvascular endothelial cells</i>)
BSA	bovinní sérový albumin
BUN	<i>blood urea nitrogen</i>
C ₆₀	fulleren
CaCo2	buněčná linie lidského kolorektálního adenokarcinomu (<i>human colon adenocarcinoma cell line</i>)
Caco-2	imortalizované lidské buňky kolorektálního adenokarcinomu
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CAT	kataláza
CB	saze (<i>carbon black</i>)
CD	uhlíkové tečky (<i>carbon dots</i>)
CDH1	kadherin 1
CFU	kolonie tvořící jednotku
CHCE-T	lidské rohovkové epitelové buňky
CNF	uhlíková nanovláknina (<i>carbon nanofibres</i>)
CNH	uhlíkové nanorohy (<i>carbon nanohorns</i>)
CNM	uhlíkové nanomateriály (<i>carbon nanomaterials</i>)
CNP	uhlíkové destičky (<i>carbon platelets</i>)
CNS	centrální nervová soustava
CNT	uhlíkové nanotrubičky (<i>carbon nanotubes</i>)
CPPED1	<i>calcineurin-like phosphoesterase domain containing 1</i>
CT	počítačová tomografie
CVD	chemická depozice z plynné fáze

DAMP	<i>damage/danger-associated molecular patterns</i>
DWCNT	dvoustěnné uhlíkové nanotrubičky (<i>double-walled carbon nanotubes</i>)
EC ₅₀	polovina maximální účinné koncentrace
EEG	elektroencefalografie
EKG	elektrokardiografie
EPC	endoteliální progenitorové buňky
EPO	eozinofilní peroxidáza
FBN1	fibrilin 1
FBS	fetální bovinní sérum
FDT	fotodynamická terapie
FLG	vícevrstvý grafen (<i>few layer graphene</i>)
FLGO	několikvrstvý grafen oxid (<i>few-layer graphene oxide</i>)
FN1	fibronektin
FSF1	fibroblasty z kůže lidského obličeje
FSH	folikuly stimulující hormon
FTT	fototermální terapie
GGT	γ -glutamyltransferáza
GIT	gastrointestinální trakt
GNP	grafenové nanodestičky (<i>graphene nanoplatelets</i>)
GO	oxid grafenu (<i>graphen oxide</i>)
GO-DOTA	oxid grafenu funkcionalizovaný kyselinou 1,4,7,10-tetraazacyklododekan-1,4,7,10-tetraoctovou
GO-QD	kvantové tečky oxidu grafenu (<i>graphene oxide quantum dots</i>)
GP	grafenové plátky
GPCR	receptor spřažený s G proteinem (<i>G protein-coupled receptors</i>)
GQD	grafenové kvantové tečky (<i>graphene quantum dots</i>)
H2AFX	<i>histone family member X</i>
H9c2	kardiomyoblasty
HaCaT	imortalizované keratinocyty
HASMC	buňky hladké svaloviny aorty (<i>human aortic smooth muscle cells</i>)
HBEC-3KT	nenádorové buňky lidského bronchiálního epitelu
hConECs	lidské epitelové spojivkové buňky
hCorECs	lidské epitelové buňky rohovky
HEB	hematoencefalická bariéra
HEK-293T	lidské embryonální ledvinné buňky
HepG2	buňky hepatocelulárního karcinomu
HK-2	dospělé lidské buňky proximální tubulárního epitelu
HLF	lidské plicní fibroblasty (<i>human lung fibroblasts</i>)
HNEpC	primární buňky lidského nosního epitelu
hpf	hodin po fertilizaci
HSC 2012	Hazard Communication Standard
Hsp90	<i>heat shock protein 90</i>
HT29	buňky lidského kolorektálního adenokarcinomu s epiteliální morfologií
HUVEC	endoteliální buňky lidské pupečnickové žíly (<i>human umbilical vein endothelial cells</i>)
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICAM-1	solubilní intercelulární adhezni molekuly 1 (<i>intercellular adhesion molecules</i>)
IL	interleukin
LLC-PK1	prasečí buňky proximálního ledvinného tubulu
LOX-1	<i>lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor</i>
LPS	lipopolysacharid

MAMP	<i>microbe-associated molecular patterns</i>
MPO	myeloperoxidáza
MWCNT	vícetěnné uhlíkové nanotrubičky (<i>multi-walled carbon nanotubes</i>)
MWCNT-PVP	mnohovrstvé uhlíkové nanotrubičky funkcionalizované polyvinylpyrrolidonem
MWCNT-TEPA	MWCNT funkcionalizované tetraetylenpentaminem
NCI-H322	nemalobuněčný bronchoalveolární karcinom
NCM460	epitelové buňky tlustého střeva
ND	nanodiamanty
NET	extracelulární neutrofilové pasti (<i>neutrofil extracellular traps</i>)
NF- κ B	<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NHBE	normální lidské bronchiální epitelové buňky
NHDF	lidské dermální fibroblasty
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NIR	blízké infračervené záření
NKR-52E	kryší epitelové buňky ledvin
NLR	<i>NOD-like receptor</i>
NLRP3	<i>NOD-like receptor family pyrin domain containing 3</i>
NOD	<i>nucleotide-binding oligomerization domain</i>
OSHA	Occupational Safety and Health Administration
Ox-MWCNT	oxidované MWCNT
PAMP	<i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PEG	polyethylenglykol
PEG-MWCNT	polyethylenglykolované MWCNT
PRR	<i>pattern recognition receptors</i>
PTEN	homolog fosfatázy a TENSinu (<i>phosphatase and TENsin homolog</i>)
RES	retikuloendoteliální systém
rGO	redukovaný GO
RhE	SkinEthic™ model rekonstruované lidské epidemirs
ROS	volné kyslíkové radikály (<i>reactive oxygen species</i>)
RPE	retinální pigmentový epitel
RTG	rentgenové záření
SAEC	epitelové buňky nižších etází dýchacích cest (<i>small airway epithelial cells</i>)
sFLG	malý vícevrstevný grafen (<i>small few-layer graphene</i>)
SLGO	jednovrstvý grafen oxid (<i>single-layer graphene oxide</i>)
SOD1	superoxiddismutáza
SWCNT	jednovrstvé uhlíkové nanotrubičky (<i>single-wall carbon nanotubes</i>)
TGF	<i>transforming growth factor</i>
TGFB1	transformující růstový faktor β (<i>transforming growth factor β</i>)
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>
T-MWCNT	dispergované Tweenem-80
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
VCAM-1	solubilní vaskulární buněčné adhezni molekuly 1 (<i>vascular cell adhesion molecule</i>)
VEGF	vaskulární endotelový růstový faktor
Vero	buněčná linie epitelialních buněk ledvin z afrického kočkodana zeleného
ZO-1	zonula occludens-1