

# Nanosustavi u terapiji atopijskog dermatitisa

---

Blažević, Lana

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:668091>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Lana Blažević**

# **Nanosustavi u terapiji atopijskog dermatitisa**

## **DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

*Diplomski rad prijavljen je na kolegiju Oblikovanje lijekova i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod stručnim mentorstvom prof. dr. sc. Željke Vanić.*

*Zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Željki Vanić, na pomoći, riječima ohrabrenja i strpljenju pri izradi ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem obitelji na bezuvjetnoj ljubavi i podršci koju su mi pružali za vrijeme studiranja. Posebno želim zahvaliti svojoj sestri Ani koja mi je bila „mentorica“ kako kroz studentske dane tako i kroz život.*

*Veliko hvala mom Franu i svim prijateljima na svakoj riječi podrške i beskrajnom strpljenju, čak i za vrijeme onih najduljih i najtežih rokova. Bez vas bi studentski dani bili puno manje slatki.*

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. ATOPIJSKI DERMATITIS.....	1
1.1.1. Definicija i prevalencija atopijskog dermatitisa.....	1
1.1.2. Atopija i atopijski marš.....	1
1.1.3. Etiologija i patogeneza atopijskog dermatitisa.....	3
1.1.4. Klinička slika atopijskog dermatitisa.....	6
1.1.5. Dijagnostika atopijskog dermatitisa.....	9
1.1.6. Liječenje atopijskog dermatitisa.....	11
1.2. NANOSUSTAVI.....	15
1.2.1. Definicija i prednost.....	15
1.2.2. Polimerni nanosustavi.....	15
1.2.3. Lipidni nanosustavi.....	17
1.2.4. Nanosustavi temeljeni na surfaktantima.....	19
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	21
3. MATERIJALI I METODE.....	22
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	23
4.1. GRAĐA KOŽE I BARIJERNA FUNKCIJA.....	23
4.1.1. Građa kože.....	23
4.1.2. Barijerna funkcija kože.....	25
4.2. SPECIFIČNOSTI GRAĐE KOŽE U ATOPIJSKOM DERMATITISU.....	27
4.2.1. Filagrin.....	27
4.2.2. pH vrijednost kože.....	28
4.2.3. Čvrste veze.....	29
4.3. TRANSPORT DJELATNIH TVARI KROZ KOŽU.....	30
4.4. TRANSPORT NANOSUSTAVA KROZ KOŽU.....	34
4.4.1. Transport polimernih nanosustava kroz kožu.....	34
4.4.2. Transport lipidnih nanosustava kroz kožu.....	35
4.4.3. Transport nanosustava temeljenih na surfaktantima kroz kožu.....	38

4.5. NANOSUSTAVI U TERAPIJI ATOPIJSKOG DERMATITISA.....	39
4.5.1. Polimerni nanosustavi u terapiji atopijskog dermatitisa.....	39
4.5.2. Lipidni nanosustavi u terapiji atopijskog dermatitisa.....	42
4.5.3. Nanosustavi temeljeni na surfaktantima u terapiji atopijskog dermatitisa.....	48
4.6. Problemi prilikom razvoja nanosustava.....	49
5. ZAKLJUČAK.....	50
6. LITERATURA.....	52
7. SAŽETAK.....	61

# 1. UVOD

## 1.1. ATOPIJSKI DERMATITIS

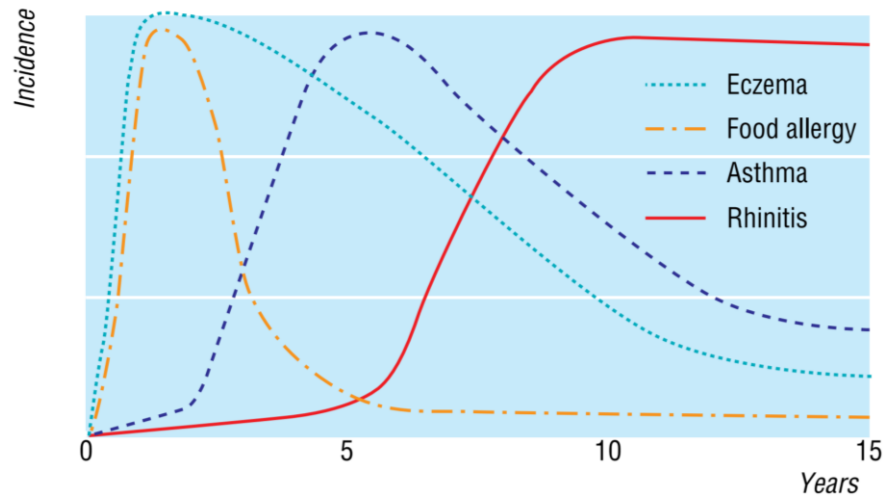
### 1.1.1. Definicija i prevalencija atopijskog dermatitisa

Atopijski dermatitis (AD) kronična je relapsirajuća upalna bolest kože popraćena pruritusom kao karakterističnim simptomom. Predstavlja najčešću upalnu bolest kože, zahvaćajući 15 do 30% djece te 2 do 10% odraslih. U gotovo polovici slučajeva bolest se javlja unutar prvih 6 mjeseci života, a u svega 10% slučajeva prvi simptomi se manifestiraju tek između 6. i 20. godine života. AD ima tendenciju povlačenja s dobi te je u otprilike 70% slučajeva uočeno ozdravljenje prije adolescencije (Bieber, 2008).

### 1.1.2. Atopija i atopijski marš

Sam koncept atopije nekada je obuhvaćao tek alergijsku astmu i alergijski rinitis. Kasnije je, utvrđivanjem povezanosti tih stanja, toj skupini pridodan i AD te je nastala takozvana atopijska trijada (Spergel i Paller, 2003). Danas se, prema službenoj definiciji Američke akademije za alergiju, astmu i imunologiju (engl. *The American Academy of Allergy, Asthma & Immunology*, AAAAI), pojam atopije odnosi na genetsku tendenciju (osobnu i/ili obiteljsku) za razvoj alergijskih bolesti kao što su alergijski rinitis, astma i AD, te se atopija najčešće povezuje s pojačanim odgovorom imunskog sustava na uobičajene alergene.

Upravo AD predstavlja prvi korak na putu kasnijeg razvoja drugih atopijskih bolesti, obzirom na to da oko 60% djece s AD-om ima predispoziciju za razvoj jedne ili više njih, te je taj fenomen poznatiji pod nazivom atopijski marš (Slika 1). Trećina djece s AD-om u kasnijoj životnoj dobi razvit će astmu, odnosno oko dvije trećine djece razvit će alergijsku senzibilizaciju i simptome alergijskog rinitisa. Također, rizik razvoja drugih atopijskih bolesti to je veći što su simptomi AD-a bili izraženiji i što su se ranije u životu pojavili, te ukoliko je uz AD bila prisutna i alergija na hranu (Spergel, 2010).



**Slika 1.** Grafički prikaz ovisnosti incidencije atopijskih bolesti o dobi, odnosno progresije atopijskog marša. Preuzeto iz Barnetson i Rogers (2002), uz dozvolu *BMJ Publishing Group-a*.

Koncept atopijskog marša dodatno potvrđuju longitudinalna istraživanja, kao što je ono koje su proveli Rhodes i sur. (2002). Proučavajući novorođenčad u obiteljima sklonim atopiji na području Velike Britanije uočili su da je prevalencija AD-a bila najviša kada su djeca napunila jednu godinu starosti te je iznosila 20%, no već se na kraju dvadesetdvo godišnje studije smanjila na otprilike 5%, dok se prevalencija alergijskog rinitisa postepeno povisila s 3 na 15%. S druge strane, Barberio i sur. (2008) su, proučavajući pacijente s astmom koji su tek kasnije razvili simptome AD, dokazali da se atopijski marš ne mora nužno odvijati poštujući prethodno spomenuti obrazac.

### 1.1.3. Etiologija i patogeneza AD-a

Etiopatogeneza AD-a složena je i nije u potpunosti razjašnjena. Ono što je već poznato jest da nastaje kao posljedica kombinacije djelovanja genetskih i okolišnih čimbenika. Novije spoznaje upućuju i na narušenu kožnu barijeru, poremećaj mikrobioma kože, poremećaj imunskog odgovora te pojačanu sklonost infekcijama kože kao bitne čimbenike u razvoju AD-a (Bieber, 2008).

#### Genetička pozadina

AD je bolest sa snažnom genetskom predispozicijom, obzirom na to da je incidencija bolesti u djece čija su oba roditelja bolovala od AD-a čak 80%. Također, smatra se da se atopijska konstitucija češće nasljeđuje preko majke.

Bolest se javlja u kontekstu dvije glavne skupine gena: gena koji kodiraju epidermalne ili druge epitelne strukturne proteine, te gena koji kodiraju glavne elemente imunskog sustava. Ipak, najčešća genska mutacija koja se spominje u kontekstu AD-a je upravo ona gena za filagrin (FLG), dijela tzv. epidermalnog diferencijacijskog kompleksa (engl. *epidermal differentiation complex*, EDC), smještenog u regiji 1q21. Učestalost takvih mutacija, koje rezultiraju smanjenim stvaranjem ili nedostatkom filagrina, varira između 3 i 50% unutar populacije s AD-om.

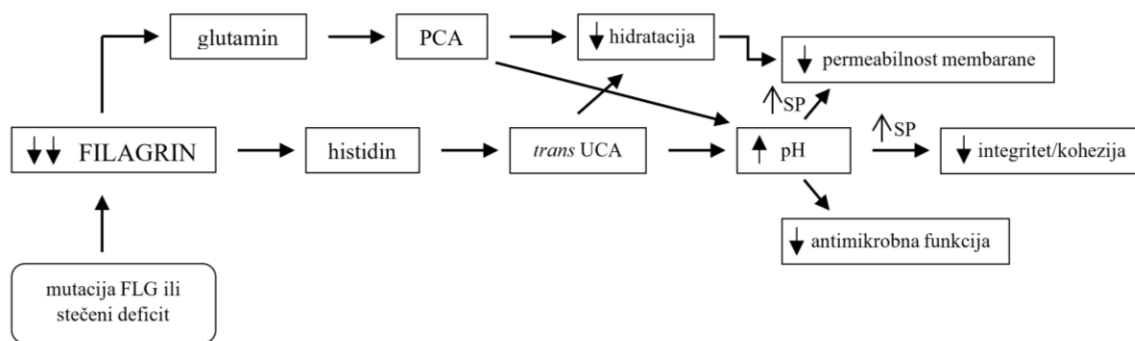
Osim FLG mutacija, koje su najčešće točkaste, identificirani su i drugi geni čije mutacije potencijalno imaju ulogu u patogenezi AD-a, kao što su oni koji kodiraju za sljedeće strukture: SP inhibitor SPINK5 (engl. *Serine Peptidase Inhibitor Kazal Type*) ; kladin-1, protein koji tvori čvrste spojeve među stanicama (eng. *tight junction*); MHC (ili HLA); AMP i PRR; CD14; MBL2; TLR2, 4, 6 i 9; i dr. (Al-Shobaili i sur., 2016).



## Narušena kožna barijera

Filagrin, ranije poznat pod nazivom *Stratum Corneum Basic Protein* (SCBP), značajno doprinosi čvrstoći i integritetu kožne barijere, a njegovi metaboliti važni su za održavanje vlažnosti kože, optimalnog pH, kao i za antimikrobna svojstva.

Usljed mutacija FLG-a dolazi do poremećaja zaštitne funkcije kože, točnije njezinog površinskog sloja (*stratum corneum*, SC). Takvi uvjeti onemogućavaju održavanje optimalne vlažnosti kože što će rezultirati poremećajima u mnogim fiziološkim procesima, kao što je smanjena aktivnost enzima koji sudjeluju u stvaranju i deskvamaciji stanica, ali i pojačanim stvaranjem proupalnih faktora, primjerice interleukina-1 (IL-1). Također, nedovoljnim stvaranjem ili nedostatkom filagrina, smanjuje se i razina njegovih metabolita; aminokiselina (histidin, glutamin i dr.) i njihovih derivata (urokanična kiselina, UCA, i piroolidon-karboksilna kiselina, PCA). Ti metaboliti pridonose kiselosti epidermalne površine, a smanjenje njihovih razina rezultirat će povećanjem pH vrijednosti kože. Takvo što pogoduje nastanku različitih infekcija kože, kao što su one koje uzrokuju *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*, ali i povećanju aktivnosti serinskih proteaza (SP). Posljedično dolazi do smanjenja aktivnosti enzima nužnih za sintezu ceramida, sfingomijelinaza i  $\beta$ -glukocerebrozidaza, ali i do smanjene kohezije SC-a i aktivacije imunskog odgovora (Čepelak i sur., 2016). Posljedice smanjenog stvaranja filagrina u vidu smanjenja zaštitne funkcije SC-a shematski su prikazane na Slici 2.



**Slika 2.** Shematski prikaz ujecaja smanjenog stvaranja filagrina na funkciju kožne barijere.

Prilagođeno prema Čepelak i sur. (2016).

## **Imunopatogeneza i upalne stanice**

Osim mutacija FLG-a, identificirani su i brojni drugi geni s potencijalnom ulogom u patogenezi AD-a. Neki od njih kodiraju citokine uključene u regulaciju sinteze imunoglobulina E (IgE): IL-4, IL-5, IL-12 i IL-13 te GM-CSF (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Pomoćničke T stanice tip 2 (Th2) izlučuju IL-4, IL-5 i IL-13, te na taj način potiču promjenu klase protutijela IgM ka IgE. S druge strane, Th1 stanice uglavnom izlučuju IL-12 i interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), te na taj način potiču sintezu IgG protutijela. Polimorfizam gena koji kodira za citokin IL-18, koji ima bitnu ulogu u regulaciji odgovora Th1 i Th2 stanica, odnosno poticanju Th1 odgovora, ključan je za nastanak neravnoteže Th1 i Th2 imunskog odgovora u AD-u. Tako u osoba s AD-om genetski određena dominacija Th2 citokina utječe na sazrijevanje B stanica i pojačanu promjenu klase ka IgE protutijelima (Bieber, 2010). U kroničnoj fazi bolesti prevladava Th1 odgovor, vrlo vjerojatno kao posljedica pojačane produkcije IL-12 kojeg izlučuju eozinofili i upalne dendritičke stanice (Murat-Sušić, 2007).

## **Mikrobiom kože**

U pacijenata s AD-om česta je i smanjena proizvodnja antimikrobnih peptida u koži te poremećaj mikrobioma kože karakteriziran smanjenom raznolikošću i pojačanom kolonizacijom bakterijom *S. aureus*. Tome dodatno pridonosi i poremećaj barijerne funkcije i pH vrijednosti kože. Pojačana kolonizacija ne mora nužno značiti da je pacijent inficiran ovom bakterijom, no smatra se da je rizik suprainfekcija njegovih kutanih lezija povećan. Također, pacijenti s AD-om imaju nešto veći rizik kolonizacije i infekcije meticilin-rezistentnim *S. aureus*-om (MRSA) u usporedbi s ostatkom populacije. Osim bakterijskim, pacijenti su podložniji i virusnim infekcijama. Osobito su česte infekcije *Herpes simplex* virusom (HSV), koje u otprilike 20% pacijenata s AD-om prerastu u herpetični ekcem, potencijalno po život opasno stanje. Isto vrijedi i za infekcije virusom *Molluscum contagiosum*. Fungalne infekcije također su česte, a pritom dolazi do kolonizacije lezija na koži dermatofitima ili kvascima (Drucker, 2017).

## **Okolišni čimbenici**

Bitnu ulogu u patogenezi AD-a, kao i u pogoršanju simptoma bolesti, imaju i vanjski faktori. Tako se primjerice pokazalo da onečišćenje zraka, odnosno više razine formaldehida, benzena, PM10 čestica, dušikova oksida i ugljičnog monoksida mogu utjecati na pojačanje simptoma AD-a (Boothe i sur., 2017). Takvo što dodatno potvrđuje i činjenica da je incidencija AD-a viša u urbanim sredinama (Kowalska-Oleđzka i sur., 2019). Povećan rizik od AD-a povezuje se i s izlaganjem duhanskom dimu u prenatalnom razdoblju i u ranom djetinjstvu te se smatra da se na taj način inducira dominacija Th2 imunskog odgovora. Također, izlaganje sapunima i deterdžentima ne samo da snižava pH kože već smanjuje i sadržaj lipida kože što može potaknuti nastanak ili pogoršanje simptoma AD-a. I konačno, alergeni iz hrane prepoznati su kao potencijalno bitan čimbenik u egzacerbaciji simptoma AD-a, a neki od najčešćih su jaja, kravlje mlijeko, soja, kikiriki i pšenično brašno (Boothe i sur., 2017).

### **1.1.4. Klinička slika AD-a**

Bolest je karakterizirana izmjenom razdoblja regresije i egzacerbacija bolesti uz pojavu promjena na koži i svrbeža. U većine pacijenata javlja se i suhoća kože koja može biti lokalizirana ili, češće, generalizirana. Klinička slika, odnosno morfologija i lokalizacija kožnih promjena, prije svega ovisi o dobi, te se u tom pogledu postoji infantilna faza, faza djetinjstva, te adolescentna faza i odrasla dob (Murat-Sušić, 2007).

#### **Infantilna faza (0-2 godine)**

Karakterizirana je znatnim vlaženjem promjena, a one su prisutne na obrazima, vlasištu, trupu te prednjim dijelovima ekstremiteta (Slika 3). Perioralna i pelenska regija najčešće su pošteđene. Uz karakteristično crvenilo i suhoću kože uz ljuštenje, može doći i do razvoja krasti i eritematoznih makula. U slučajevima kada je zahvaćeno i vlasište, promjene u blažim slučajevima podsjećaju na prhut, no u težim slučajevima dolazi i do nastajanja krasti. Veliki problem su sekundarne infekcije koje najčešće nastaju uslijed grebanja, a uzorkovane su stafilokokom ili streptokokom (Kunz i Ring, 2006).



**Slika 3.** Dojenče s generaliziranim AD-om uz izražen svrbež (Murat-Sušić, 2007)

#### **Faza djetinjstva (2-12 godina)**

Bolest u dobi od 2 do 12 godina najčešće zahvaća koljena i laktove, no mogu biti zahvaćena i ostala područja poput lica, vrata i glutealnog područja (Slika 4). Akutna faza karakterizirana je crvenim lezijama, no zbog dugotrajnijeg grebanja, u kroničnoj fazi, dolazi do zadebljanja kože i nastajanja lihenificiranih područja koja su ili crvena ili bijela (Kunz i Ring, 2006).



**Slika 4.** Karakteristična distribucija promjena u starijem djeteta (vrat, dekolte, pregibi laktova) (Murat-Sušić, 2007)

### **Adolescentna faza (12-18 godina) i odrasla dob**

Iako se u većine pacijenata simptomi bolesti povuku prije adolescencije, u svega 10% slučajeva oni se mogu nastaviti i kroz odraslu dob. Ova faza karakterizirana je lihenificiranim područjima koljena i laktova (Slika 5) te promjenama oko očiju, najčešće crvenilom i edemom. U iznimno teškim slučajevima dolazi i do generaliziranog crvenila i lihenifikacije (Kunz i Ring, 2006).



**Slika 5.** Generalizirane promjene uz ekskoriacije na ekstremitetima (Murat-Sušić, 2007)

### **1.1.5. Dijagnostika AD-a**

Dijagnostika AD-a otežana je upravo zato što ne postoje pouzdani laboratorijski parametri koji bi potvrdili bolest, tako da se dijagnoza postavlja na temelju kliničke slike, osobne i obiteljske anamneze te detaljnog kliničkog pregleda, a postupak značajno olakšavaju unaprijed definirani dijagnostički kriteriji.

Hanifin i Rajka su 1980. godine donijeli smjernice za postavljanje dijagnoze AD-a u vidu osnovnih i sporednih kriterija. Pritom za postavljanje dijagnoze moraju biti prisutna barem 3 osnovna te barem 3 sporedna kriterija (Tablica 1).

Danas se najčešće koriste revidirani dijagnostički kriteriji Hanifina i Rajke iz 2003. godine koji uključuju 4 skupine kriterija. Prvu skupinu čine osnovni kriteriji koji moraju biti prisutni, a to su svrbež, dermatitis, tipične kožne promjene i njihova distribucija, te kronični ili kronično-recidivirajući tijek dermatitisa. Drugu skupinu čine kriteriji koji se nalaze u većine oboljelih i govore u prilog dijagnozi, a to su rani početak bolesti, osobna ili obiteljska sklonost atopiji, povišena razina IgE-a i suhoća kože. Treću skupinu čine kriteriji koji pomažu u postavljanju dijagnoze no nisu specifični za AD, kao što su bljedilo lica, hiperlinearnost dlanova, periorbitalne promjene i druge. I konačno, četvrta skupina kriterija opisuje stanja koja isključuju dijagnozu, kao što su skabijes, seboroični dermatitis, kontaktni dermatitis, psorijaza i sl. (Pustišek i sur., 2019).

**Tablica 1.** Dijagnoza AD-a prema Hanifin i Rajka kriterijima. Prilagođeno prema Hanifin i Rajka (1980).

---

<b>Osnovni kriteriji (moraju biti prisutna 3 ili više)</b>
1. Tipične kožne promjene i njihova distribucija <ul style="list-style-type: none"><li>- lihenifikacija pregiba ili pojačan kožni crtež u odraslih</li><li>- zahvaćenost lica i ekstenzornih površina u dojenčadi i male djece</li><li>- svrbež</li></ul>
2. Kroničan ili kronično recidivirajući tijek dermatitisa
3. Pozitivna osobna ili obiteljska anamneza za atopijske bolesti (astma, alergijski rinitis ili AD)

---

<b>Sporedni kriteriji (moraju biti prisutna 3 ili više)</b>
1. Suhoća kože
2. Ihtioza, pojačana izbrazdanost dlanova, pilarna keratoza
3. Rana (tip I) reaktivnost u kožnim testovima
4. Povišen IgE u serumu
5. Početak u ranijoj životnoj dobi
6. Sklonost kožnim infekcijama (osobito <i>S. aureus</i> i HSV; oslabljena stanična imunost)
7. Sklonost nespecifičnom dermatitisu šaka i stopala
8. Ekcem bradavica dojki
9. Heilitis
10. Recidivirajući konjuktivitis
11. Dennie-Morganova infraorbitalna brazda
12. Keratokonus
13. Katarakta
14. Zatamnjenja orbita
15. Bljedoća lica/eritem lica
16. <i>Pityriasis alba</i>
17. Nabori prednjeg dijela vrata (engl. <i>anterior neck fold</i> )
18. Svrbež pri znojenju
19. Nepodnošenje vune i lipidnih otapala
20. Naglašenost perifolikularnih areala
21. Preosjetljivost na hranu
22. Tijek ovisan o okolišnim ili emocionalnim čimbenicima
23. Blijedi dermografizam (engl. <i>delayed blanch</i> )

---

### **1.1.6. Liječenje AD-a**

Obzirom na to da ne postoje laboratorijski parametri koji bi korelirali s težinom bolesti, Europska radna skupina za AD razvila je takozvani SCORAD indeks (engl. *Severity Scoring Atopic Dermatitis*). Pritom se ocjenjuju objektivni (proširenost i intenzitet eritema, edema/papula, krusta, ekzorijacija i lihenifikacija) i subjektivni simptomi (svrbež, nesanica), temeljem kojih se bolest svrstava u jednu od tri kategorije: blagi, srednje teški ili teški AD (Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis, Dermatology 1993).

### **Nefarmakološke mjere**

Koža pacijenata s AD-om treba se temeljito, ali nježno i pažljivo čistiti. Preporuča se redovito, ne predugo pranje u toploj, ali ne prevrućoj vodi, 2-7 puta tjedno, koristeći emolijentno sredstvo za pranje s vrlo blagim surfaktantom. pH takvog sredstva za pranje trebao bi biti barem unutar fiziološkog pH područja (pH 5-6) ili nešto nižeg pH radi pozitivnih učinaka na barijernu funkciju kože. Također, preporuča se odmah nakon pranja, dok je koža još uvijek vlažna, nanijeti emolijentno sredstvo za njegu kože, odnosno korištenje tzv. *soak-and-seal* pristupa. Pritom je bitno emolijense koristiti u obilnim količinama; barem 30 g dnevno, odnosno 1 kg mjesečno za odrasle (Wollenberg i sur., 2020).

### **Lokalna terapija**

Učinkovitost topikalne terapije temelji se na odabiru odgovarajuće doze lijeka te načina aplikacije. Topikalni pripravci, posebice masti, trebaju se nanositi na hidratiziranu kožu. Ukoliko se emolijensi i protuupalni topikalni preparati trebaju nanijeti na isto područje kože, tada se kreme nanose prve, a tek 15 minuta kasnije i masti. Također, preporuča se korištenje tzv. „*wet wrap*“ terapije koja se sastoji od omotavanja dijela tijela na kojeg je nanesen topikalni pripravak dvama slojevima gaza, prvim vlažnim i drugim suhim. Na taj način se, okluzivnim učinkom i hidratacijom, pospješuje apsorpcija, smanjuje gubitak vode te sprječava grebanje kože (Eichenfield i sur., 2014).



Topikalni kortikosteroidi predstavljaju prvi izbor u slučaju protuupalne terapije AD-a. Obzirom na postojanje različitih skupina kortikosteroida na osnovi jakosti njihova učinka, izbor će se temeljiti na pacijentovoj dobi, težini bolesti te lokaciji lezija. S njihovom primjenom treba započeti odmah prilikom pojave prvih simptoma, a za rutinsko tretiranje lezija dostatna je primjena jednom dnevno kroz svega nekoliko dana.

Za liječenje osjetljivih područja kože (kapci, perioralno i genitalno područje) te u pacijenata kojima je potrebna nešto dugotrajnija terapija, topikalni inhibitori kalcineurina predstavljaju dobar odabir. Njihova prednost nad topikalnim kortikosteroidima jest to što iskazuju dobra protuupalna i antipruritična svojstva, ali bez uzrokovanja nuspojava koja se vežu uz topikalne kortikosteroide poput atrofije kože. Za terapiju AD-a od topikalnih inhibitora kalcineurina registrirani su takrolimus i pimekrolimus.

Lokalni inhibitor fosfodiesteraze 4 (PDE4), krisaborol, registriran je 2016. godine te predstavlja prvi novi lijek za lokalno liječenje AD-a. Njegov učinak temelji se na smanjenju produkcije proupalnih citokina kao posljedicu degradacije cikličkog adenozin monofosfata (Wollenberg i sur., 2020).

### **Sistemska terapija**

Sistemska terapija nužna je ukoliko primjenom topikalne terapije ne dolazi do povlačenja simptoma. Na taj način mogu se primjerice smanjiti količine topikalnih kortikosteroida u pacijenata kojima je potrebna primjena viših doza na većim površinama kroz dulji vremenski period. Donedavno su jedina opcija za sistemske terapije bili imunosupresivi poput sistemskih kortikosteroida, ciklosporina A, azatioprina, mikofenolat mofetila i metotreksata, no otkrićem dupilumaba dobiven je i prvi biološki lijek registriran za terapiju AD-a.

Sistemske kortikosteroidi vrlo brzo ispoljavaju svoje učinke, no imaju vrlo nepovoljan omjer rizika i koristi. Upravo zbog brojnih nuspojava koje izazivaju njihova primjena ograničena je na svega 1-2 tjedna.

Ciklosporin A najčešće predstavlja lijek prvog izbora za pacijente kojima je potrebna terapija imunosupresivima. Vrlo često se koristi zbog svoje visoke učinkovitosti i u djece i u odraslih. Trajanje terapije varira od 3 mjeseca do 1 godine, no neki pacijenti toleriraju niske doze ciklosporina A i kroz dulji vremenski period.

Metotreksat ima odgođen učinak te postiže maksimalnu kliničku učinkovitost nakon 8-12 tjedana primjene. Svaki ciklus metotreksata treba biti popraćen suplementacijom s folnom kiselinom.

Azatioprin svoj maksimalni učinak također ispoljava tek nakon 8-12 tjedana primjene. Prije započinjanja terapije potrebno je provesti ispitivanja aktivnosti tiopurin metiltransferaze (TPMT) pacijenata, obzirom na to da se smanjena aktivnost ovog enzima povezuje s popvećanom mijelotoksičnošću azatioprina.

Mikofenolat mofetil, kao i prethodno navedeni lijekovi, ima odgođen učinak.

Dupilumab je prvi biološki lijek odobren za terapiju srednje teškog do teškog oblika AD-a u pacijenata starijih od 12 godina. Riječ je o humanom monoklonskom protutijelu čija je meta IL-4R $\alpha$ , te na taj način blokira signalizaciju IL-4 i IL-13 (Wollenberg i sur., 2020).

a)

<b>TEŠKI AD:</b> SCORAD >50 ili trajni ekcem	hospitalizacija, dupilumab, sustavna imunosupresija: ciklosporin A, metotreksat, azatioprin, mikofenolat mofetil
<b>SREDNJE TEŠKI AD:</b> SCORAD 25-50 ili recidivirajući ekcem	proaktivna terapija topikalnim takrolimusom ili topikalnim kortikosteroidima klase II ili III, <i>wet wrap</i> terapija, UV terapija (UVB 311 nm), psihosomatsko savjetovanje, klimatska terapija
<b>BLAGI AD:</b> SCORAD <25 ili prolazni ekcem	reaktivna terapija lokalnim kortikosteroidima klase II ili, ovisno o lokalnim kofaktorima: topikalni inhibitori kalcineurina, antiseptici uključujući srebro i srebrom impregnirane tekstile, topikalni krisaborol
<b>POČETNO STANJE:</b> osnovna terapija	edukativni programi, emolijensi, uljne kupke, izbjegavanje klinički relevantnih alergena (ukoliko je preosjetljivost dokazana alergološkim testiranjem)

b)

<b>TEŠKI AD:</b> SCORAD >50 ili trajni ekcem	hospitalizacija, kratkotrajna terapija ciklosporinom A, dupilumabom dulja sustavna imunosupresija: metotreksat, azatioprin, mikofenolat mofetil, PUVA, alitretinoin
<b>SREDNJE TEŠKI AD:</b> SCORAD 25-50 ili recidivirajući ekcem	proaktivna terapija topikalnim takrolimusom ili topikalnim kortikosteroidima klase II ili III, <i>wet wrap</i> terapija, UV terapija (UVB 311 nm, srednje doze UVA1), psihosomatsko savjetovanje, klimatska terapija
<b>BLAGI AD:</b> SCORAD <25 ili prolazni ekcem	reaktivna terapija lokalnim kortikosteroidima klase II ili, ovisno o lokalnim kofaktorima: topikalni inhibitori kalcineurina, antiseptici uključujući srebro i srebrom impregnirane tekstile, topikalni krisaborol
<b>POČETNO STANJE:</b> osnovna terapija	edukativni programi, emolijensi, uljne kupke, izbjegavanje klinički relevantnih alergena (ukoliko je preosjetljivost dokazana alergološkim testiranjem)

**Slika 6.** Shematski prikaz mogućnosti liječenja AD-a u a) djece i b) odraslih. Prilagođeno prema Wollenberg i sur. (2020).

## **1.2. NANOSUSTAVI**

### **1.2.1. Definicija i prednosti**

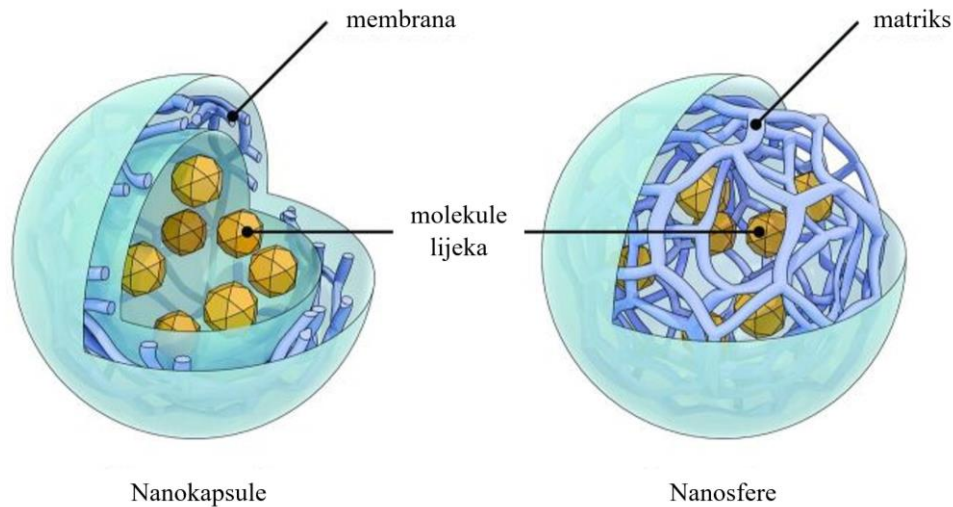
U nanosustave se ubrajaju čestice koje veličinom pripadaju nanometarskom području (<1000 nm), a međusobno se razlikuju dimenzijama, građom, oblikom i površinskim svojstvima. Glavno obilježje im je veliki omjer površine i volumena, kao i veliki broj čestica po jedinici površine. Korištenjem nanosustava, odnosno uklapanjem djelatne tvari u odgovarajući nosač, stabilnost pripravka te njegova farmakokinetička i farmakodinamička svojstva mogu se značajnije poboljšati. Povećava se opseg apsorpcije, a posljedično i bioraspoloživost. Moguće je i postići kontrolirano oslobađanje, pa čak i selektivnije djelovanje na pojedine mete u organizmu čime se smanjuje toksičnost. Govoreći u kontekstu topikalnih pripravaka mogu se poboljšati i njihova senzorička svojstva (Pepić i sur., 2012).

Obzirom na građu, odnosno vrstu materijala koja dominira u njihovu sastavu, razlikuju se polimerni nanosustavi, lipidni nanosustavi te nanosustavi temeljeni na površinski aktivnim tvarima (surfaktantima).

### **1.2.2. Polimerni nanosustavi**

#### **Polimerne nanočestice**

Polimerne nanočestice su čvrste sferične koloidne čestice sastavljene od biokompatibilnih i biorazgradivih polimera veličine 10-1000 nm (Yadav i sur., 2019). Polimeri od kojih su izgrađeni mogu biti prirodnog, kao što su kitozan, alginat, albumin, želatina i dekstran, ili sintetskog podrijetla, poput polilaktične kiseline (PLA), poliglikolne kiseline (PGA) i drugih. Ovisno o načinu pripreme, polimerne nanočestice mogu se izraditi kao nanosfere i nanokapsule. Za nanosfere je karakterističan polimerni matriks dok je unutrašnjost nanokapsula ispunjena tekućom lipidnom fazom i obavijena slojem čvrstog polimera. Lijekovi se mogu uklopiti u unutrašnjost nanočestica tijekom faze polimerizacije ili vezati za površinu nanočestica nakon reakcija polimerizacije. Pritom polimerne nanokapsule imaju veći kapacitet uklapanja djelatne tvari, dok su polimerne nanosfere sustavi s nižim kapacitetom uklapanja (Wilczewska i sur., 2012). Strukturne razlike nanokapsula i nanosfera shematski su prikazane na Slici 7.



**Slika 7.** Shematski prikaz strukture nanokapsula i nanosfera. Prilagođeno prema Suffredini i sur. (2014).

### **Polimerne micelle**

Polimerne micelle nastaju asocijacijom polimernih površinski aktivnih tvari (PAT) u vodenoj, tj. polarnoj sredini tako da se hidrofobni dio molekule PAT-a orijentira prema unutrašnjosti micelle, a hidrofilni dio prema polarnoj sredini. Pritom je nužno da je koncentracija PAT-a viša od kritične micelizacijske koncentracije (cmc). Ovisno o omjeru broja hidrofilnih i hidrofobnih skupina u molekuli PAT-a, asocijacijom nastaju sferične, cilindrične, štapićaste ili lamelarne micelle (Pepić i sur., 2012). Karakterizirane su velikom sposobnošću uklapanja hidrofobnih lijekova, pa samim time i povećanjem njihove topljivosti, ali i povećanjem stabilnosti lijekova te regulacijom njihova oslobađanja.

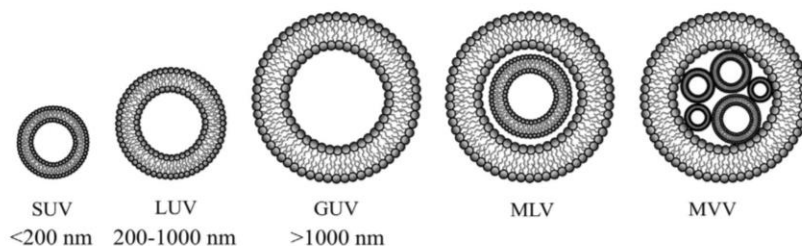
### 1.2.3. Lipidni nanosustavi

#### Liposomi

Liposomi su sferične lipidne vezikule čija veličina varira između 20-ak nm i 10-ak  $\mu\text{m}$ . Osnovnu gradivnu jedinicu liposoma čini dvosloj fosfolipida koji jednom ili više puta obavija unatarnju vodenu fazu. Fosfolipidi su amfifilne molekule, diestri fosfatne kiseline, izgrađeni od polarnih hidrofilnih „glava“ okrenutih prema vanjskoj i unutarnoj vodenoj fazi, i nepolarnih hidrofobnih „repa“ okrenutih jedan prema drugome. Polarni dio izgrađen je od glicerola i fosfatne skupine, a nepolarni dio čine lanci masnih kiselina. Zahvaljujući takvoj građi u liposome se mogu uklapati različiti lijekovi: hidrofilni u unutrašnjost (vodenu jezgru), lipofilni u ovojnica (fosfolipidni dvosloj), a amfifilni u području između vodene i lipidne regije. Pritom se lipofilni lijekovi uklapaju u puno većem postotku (čak do 100%), a hidrofilni u znatno nižem.

Liposomi se klasificiraju prema veličini i broju fosfolipidnih dvosloja, te se razlikuju unilamelarni (jedna fosfolipidna ovojnica), oligolamelarni (nekoliko koncentrično položenih ovojnica između kojih su vodeni prostori), multilamelarni (veliki broj koncentrično položenih ovojnica) i multivezikularni liposomi (mnogo manjih vezikula nasumično smještenih unutar liposoma). Unilamelarni liposomi mogu se također podijeliti u nekoliko skupina obzirom na veličinu: mali (engl. *small unilamellar vesicle*, SUV; promjera 20-100 nm), srednje-veliki (engl. *medium sized unilamellar vesicle*, MUV; promjera većeg od 100 nm), veliki (engl. *large unilamellar vesicles*, LUV; promjera 200-1000 nm) te veoma veliki unilamelarni liposomi (engl. *giant unilamellar vesicles*, GUV; promjera većeg od 1000 nm) (Vanić, 2012). Podjela je shematski prikazana na Slici 8.

Zbog svoje sličnosti s biološkim membranama liposomi su u potpunosti fiziološki prihvatljivi, a karakterizira ih i neimunogenost, netoksičnost i biorazgradivost. S druge strane, nedostatak je njihova fizička i/ili kemijska nestabilnost. Tako će liposomi u prisustvu kapljica uljne faze emulzije i/ili PAT biti skloni agregaciji, no njihova fizička stabilnost može se povećati odabirom (fosfo)lipida negativnog ili pozitivnog naboja na površini, povećanjem udjela kolesterola i oblaganjem polietilenglikolom. Kemijska nestabilnost, odnosno sklonost oksidaciji i hidrolizi fosfolipida, može se smanjiti dodatkom antioksidansa i prilagodbom pH (Pepić i sur., 2012).



**Slika 8.** Shematski prikaz klasifikacije liposoma prema veličini i broju fosfolipidnih dvosloja.

Preuzeto iz Milcovich i sur. (2017), uz dozvolu *Elsevier*-a.

Posebnu vrstu čine i ultradeformabilni liposomi poput *Transferosoma*<sup>®</sup> i *etosoma*. *Transferosomi*<sup>®</sup> su vezikule izgrađene od fosfolipidnog dvosloja uz dodatak surfaktanata poput natrijeva kolata i deoksikolata, Span-a i Tween-a kao rubnih aktivatora. Zahvaljujući svojoj građi mogu u znatno većoj mjeri prodrijeti kroz kožu (Fernández-García i sur., 2020). *Etosomi* su, s druge strane, vezikule građene od fosfolipida visokog udjela etanola (20-45%). Iako su karakterizirani većim obimom apsorpcije, zbog visokog udjela etanola mogu djelovati nadražujuće (Benson, 2005).

### Čvrste lipidne nanočestice

Čvrste lipidne nanočestice (engl. *solid lipid nanoparticles*, SLN) sferični su koloidni nosači promjera 50-1000 nm. Razvijeni su kao alternativa konvencionalnim koloidnim sustavima kao što su emulzije, liposomi i polimerne mikro- i nano-čestice. Njihov matriks izgrađen je od lipida koji se pri sobnoj temperaturi nalaze u čvrstom stanju, te su stabilizirane surfaktantima. Lipidnu komponentu najčešće čini smjesa jednog ili više fosfolipida, kolesterola, mono-, di- i triglicerida, te slobodnih masnih kiselina i žučnih soli, a njihovo talište mora biti više od prosječne tjelesne temperature kako bi ostali u krutom stanju i nakon primjene pripravka. Obzirom na to da se pripremaju od sirovina koje su biokompatibilne i biorazgradive, karakterizirane su vrlo dobrim sigurnosnim profilom, a prednost je i to što omogućavaju kontrolirano oslobađanje uklopljenog lijeka. S druge strane, nedostatak im je to što tijekom skladištenja, uslijed faznih prijelaza lipida, može doći do istiskivanja uklopljenog lijeka iz čestica (Simonazzi i sur, 2018).

## **Nanostrukturirani lipidni nosači**

Nanostrukturirani lipidni nosači (engl. *nanostructured lipid carriers*, NLC) su lipidne nanočestice koje se sastoje od smjese čvrstih i tekućih lipida. Na taj način nastaju nesavršene kristalne strukture koje imaju veću sposobnost uklapanja lijeka u odnosu na SLN i bolju fizičku stabilnost (spriječeno istiskivanje uklopljenog lijeka) (Chauhan i sur., 2020).

### **1.2.4. Nanosustavi temeljeni na surfaktantima**

#### **Niosomi**

Niosomi su vezikule veličine 10-1000 nm izgrađene od dvoslojeva neionskih PAT zahvaljujući čemu imaju sposobnost uklapanja hidrofilnih lijekova unutar vodene jezgre, ali i lipofilnih lijekova unutar membrane. Iako strukturom nalikuju liposomima, kemijski su stabilniji te stoga ne zahtijevaju posebne uvjete skladištenja i rukovanja poput liposoma. Također, karakterizirani su i biokompatibilnošću, niskim troškovima proizvodnje i niskom toksičnošću (Sharma i sur., 2019).

#### **Mikroemulzije**

Mikroemulzije su termodinamički stabilne smjese dviju tekućih faza koje se međusobno ne miješaju, a za njihovu stabilizaciju je nužan dodatak emulgatora i koemulgatora. Aktivne tvari otapaju se u disperznoj fazi mikroemulzije i to tako da se hidrofilne uklapaju u mikroemulzije tipa V/U, a hidrofobne u mikroemulzije tipa U/V. Pritom je veličina kapljica disperzne faze između 20 i 200 nm.

U usporedbi s makroemulzijama, mikroemulzije su transparentne, termodinamički stabilne (pa samim time i duljeg roka valjanosti), nastaju spontano ili uz vrlo mali trošak energije i relativno su niske viskoznosti. S druge strane, nedostatak im je relativno velika količina PAT potrebna za stabilizaciju sustava što može rezultirati većom vjerojatnošću iritacija (Pepić i sur., 2012).



## Nanoemulzije

Nanoemulzije su, kao i mikroemulzije, smjese dviju tekućih faza koje se međusobno ne miješaju; vodene i lipidne. Promjer kapljica unutarnje faze odgovara nanometarskom području, a ovisno o njegovoj veličini nanoemulzije mogu biti transparentne ili blago opalescirajuće (20 do 100 nm) te mliječno-bijelog izgleda (veće od 100 nm).

Za razliku od mikroemulzija, termodinamički su nestabilne zato što je za njihovo nastajanje najčešće potrebna velika količina energije. Također, sklone su različitim pojavama koja se vežu uz fizičku nestabilnost emulzija kao što su Oswaldovo zrenje, te posljedično vrhnjenju ili flokulaciji. Primjenom odgovarajućeg surfaktanta (i kosurfaktanta), nanoemulzije mogu postići (meta)stabilno stanje i kao takve biti znatno duljeg roka valjanosti (Simonazzi i sur, 2018).

Nanoemulzije se često primjenjuju prilikom izrade dermatoloških pripravaka zbog povoljnog učinka na poboljšanje penetracije uklopljenih lijekova. Također, čest su tehnološki oblik kozmeceutika zbog ugodnih senzoričkih svojstava; nakon primjene vodena faza će ispariti, a na koži će ostati tanak sloj lipofilnih komponenti iz pripravka (Leonida i Kumar, 2016).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

AD predstavlja veliki globalni problem obzirom da zahvaća 10 do 30% djece, odnosno 1 do 3% odraslih, što ga čini jednom od najčešćih kroničnih upalnih bolesti kože. U pacijenata s AD-om, čiji se broj u razvijenim državama u posljednjih nekoliko desetljeća uvećao za 2 do 3 puta, zabilježena je znatno manja kvaliteta života (Avena-Woods, 2017). Pritom najveći utjecaj imaju simptomi AD-a, kao što je svrbež, bol, krvarenje, iritabilnost, ali i dijetetske i druge restrikcije kojih se pacijenti moraju pridržavati kako bi se izbjegla egzacerbacija bolesti. Intenzivan svrbež u djece može dovesti do razvoja poremećaja koncentracije ili pak hiperaktivnosti, dok u odraslih uzrokuje umor, smanjenu produktivnost tijekom dana, ali i generalno oslabljeno zdravlje. Dodatno, ekcemi i drugi klinički simptomi dovode do smanjenja samopouzdanja i negativnog učinka na društveni život (Drucker, 2017).

Uobičajena terapija blagih i srednje teških oblika AD-a uglavnom se zasniva na topikalnim kortikosteroidima i inhibitorima kalcineurina, uz redovitu uporabu blagih sredstava za čišćenje kože, kao što su sindeti, te emolijentnih sredstava za njegu kože. Učestala primjena topikalnih kortikosteroida i inhibitora kalcineurina sa sobom povlači i brojne lokalne nuspojave kao što su iritacija kože na mjestu primjene, eritemi, atrofija i strije. Stoga se tijekom zadnjih dvadesetak godina nanosustavi intenzivno proučavaju kao suvremene formulacije lijekova za učinkovitiju topikalnu terapiju.

Ovaj rad donosi pregled istraživanja primjene nanosustava u liječenju AD-a kako na animalnim modelima tako i na ljudima. Ukratko je opisana specifičnost građe kože u pacijenata s AD-om te mehanizmi penetracije lijekova i nanosustava kako bi se dodatno pojasnio kontekst primjene nanosustava u topikalnoj terapiji AD-a.

### 3. MATERIJALI I METODE

Prilikom pisanju ovog diplomskog rada pretraživane su on-line baze podataka (*PubMed*, *Science Direct* i *Scopus*), pregledana je dostupna znanstvena literatura, udžbenici u tiskanom i elektroničkom obliku te članci u stručnim časopisima. Literatura je pretraživana prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu te je proučavana analitički i kritički. Pritom su korištene ključne riječi na engleskom jeziku: *atopic dermatitis*, *atopic eczema*, *atopy*, *nanosystems*, *nanotechnology*, *polymeric nanoparticles*, *polymeric micelles*, *liposomes*, *ethosomes*, *transferosomes*, *solid lipid nanoparticles*, *nanostructured lipid carriers*, *niosomes*, *microemulsions*, *nanoemulsions*, *epidermal barrier*.

Pri pretraživanju znanstvene literature traženi su odgovori na specifična pitanja vezana za problematiku ovog diplomskog rada te su izdvojeni značajniji rezultati istraživanja, rasprave i zaključci na temelju kojih su izvedena vlastita razmatranja proučavane problematike.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. GRAĐA KOŽE I BARIJERNA FUNKCIJA

#### 4.1.1. Građa kože

Koža je najveći organ ljudskog tijela te kao takva ima površinu od otprilike 1,8 m<sup>2</sup> u muškaraca, odnosno 1,2 m<sup>2</sup> u žena, i masu koja iznosi oko 18% ukupne tjelesne mase. Građena je od dva osnovna sloja, pokože (lat. *epidermis*) i kože (lat. *dermis* ili *corium*), ispod kojih se nalazi potkožno tkivo (lat. *subcutis*) kojim je vezana za podlogu. Primarna funkcija kože je zaštita organizma i unutarnjih organa od negativnih vanjskih čimbenika: fizikalnih, kemijskih i bioloških te podražaja poput UV zračenja i patogenih mikroorganizama. Također ima bitnu ulogu u termoregulaciji i metaboličkim procesima, a ima i resorptivnu ulogu (Boer i sur., 2016).

#### Epidermis

Epidermis predstavlja vanjski dio kože i izgrađen je od nekoliko slojeva. Njegova debljina varira između 0,06 mm, kolika je na vjeđama, i 0,8 mm, kolika je na dlanovima i tabanima (Benson i Watkinson, 2012). Avaskularan je, stoga se izmjena tvari odvija difuzijom kroz epidermalno-dermalni sloj, no metabolička aktivnost živih dijelova je velika. Konstantno se obnavlja tako što se novi sloj stanica keratinocita formira na bazalnom sloju, nakon čega će doći do diferencijacije, odnosno keratinizacije (kornifikacije) stanica u korneocite gubitkom jezgre i drugih organela. Proces kojim novoformirana stanica odlazi iz germinativne zone bazalnog sloja na površinu kože (engl. *turn over*) odvija se u prosjeku 28 dana, a pod nadzorom je faktora rasta poput epidermalnog faktora rasta (engl. *epidermal growth factor*, EGF) (Čajkovac, 2005). Prilikom diferencijacije keratinocita, granularne stanice izbacuju sadržaj lamelarnih granula u ekstracelularni prostor kako bi stvorile lipidni lamelarni matriks koji će spriječiti prekomjereni gubitak vode i neometan prodor tvari (Cork i sur., 2009).

Rožnati sloj (lat. *stratum corneum*, SC) građen je od 15 do 20 slojeva u potpunosti kornificiranih keratinocita (korneocita). Njegov vanjski dio nije toliko čvrsto povezan, stoga stanice postupno otpadaju procesom deskvamacije. S druge strane, unutarnji dio građen je od stanica povezanih „cementnom tvari“ koju čine intercelularni kristalinični lamelarni lipidi: ceramidi (45-50%), kolesterol i njegovi derivati (25%) i slobodne masne kiseline (10-15%) (Boer i sur., 2016).

Svijetli sloj (lat. *stratum lucidum*) prisutan je na dlanovima i tabanima, a naziv je dobio zbog svijetle boje koja se može uočiti promatranjem pod mikroskopom (Čajkovac, 2005).

Zrnasti sloj (lat. *stratum granulosum*) čine dva reda stanica ispunjenih velikim brojem zrnaca keratohijalina. Ispunjene su i granulama koje sadrže brojne hidrolitičke enzime, uključujući kimotriptičnu serin-proteazu (engl. *stratum corneum chymotryptic enzyme*, SCCE) koja ima bitnu ulogu u procesu deskvamacije. Pojačana aktivnost ovog enzima zabilježena je u pacijenata s dermatitisom i psorijazom.

Trnasti ili nazubljeni sloj (lat. *stratum spinosum*) izgrađen je od 2 do 6 slojeva stanica s jezgrama i trnastim nastavcima, tonofibrilima, a stanice su međusobno povezane desmozomima. Spinozne stanice veće su od bazalnih uslijed porasta citoplazmatskog volumena u diferenciranim stanicama (Benson i Watkinson, 2012).

Bazalni sloj (lat. *stratum basale*) čine keratinociti, melanociti, Merkelove i Langerhansove stanice, prilikom čega su keratinociti najbrojniji. Imaju relativno veliku jezgru i, za razliku od ostalih stanica, dijele se i potiskuju stanice spinoznog sloja prema površini kože. Stoga bazalni i spinozni sloj čine germinativnu zonu epidermisa (Čajkovac, 2005).

## **Dermis**

Dermis, za razliku od epidermisa, sadrži krvne i limfne žile te živce. Izgrađen je od niti vezivnog tkiva: kolagena i elastina. Strukturno se dijeli na papilarni (lat. *stratum papillare*) i retikularni sloj (lat. *stratum reticulare*). Papilarni sloj utisnut je u epidermis papilama koje olakšavaju difuziju i pojačavaju koheziju. Retikularni sloj građen je od guste mreže snopova kolagena i elastina (Čajkovac, 2005).

## **Hipodermis**

Potkožno tkivo uglavnom čine masne stanice, a u njemu se pronalaze i krvne i limfne žile, te živci i osjetilna tjelešca (Čajkovac, 2005).

#### 4.1.2. Barijerna funkcija kože

Barijernu funkciju kože u najvećoj mjeri obavlja SC svojom debljinom, veličinom korneocita i sastavom površinskih lipida, pa će tako anatomska područja s debljim epidermisom biti značajno otpornija na djelovanje negativnih vanjskih faktora od područja s relativno tankim kornificiranim slojem. Stanje epidermalne barijere ovisi o parametrima poput količine sebuma, hidrataciji epidermisa, transepidermalnog gubitka vode (engl. *transepidermal water loss*, TEWL) i pH vrijednosti kože (Fluhr i sur., 2002).

Površina rožnatog sloja prekrivena je lipidnim filmom izgrađenim od sebuma, izlučenog iz žlijezda lojnica, i epidermalnih lipida, a njegova debljina varira između 0,5 i 5  $\mu\text{m}$ , ovisno o lokaciji te o aktivnosti i gustoći žlijezda lojnica. Sebum prije svega ima zaštitnu ulogu: sudjeluje u stvaranju trodimenzionalne strukture epidermalnih lipida čime im pomaže zadržati integritet, ima antioksidativna svojstva i smanjuje negativan učinak UV zračenja, štiti kožu od prekomjerne vlažnosti zraka i varijacija temperature, te povećava kapacitet zadržavanja vode u koži. Naime, odgovarajuća produkcija sebuma povezana je s visokim stupnjem vlažnosti rožnatog sloja. Sebum također stvara zaštitni sloj koji sprječava razmnožavanje patogenih mikroorganizama, no s druge strane, količina izlučenog sebuma može povećati kolonizaciju mikroorganizmima koji nutrijente dobivaju upravo na taj način, poput *Propionibacterium acnes* i *Malassezia* vrsta (Boer i sur., 2016). Lipidni sloj ima bitnu ulogu i u selektivnoj perkutanoj permeaciji tvari, što je detaljnije obrađeno u poglavlju 4.3.

Integritet epidermalne barijere je također značajan radi održavanja hidratiziranosti kože. Hidratacija keratinocita znatno opada kako se povećava udaljenost od bazalnog sloja. Gornji, najizloženiji, sloj stanica najmanje je hidratiziran pa je stoga i pod velikim utjecajem vanjskih faktora. Tako se primjerice debiljna rožnatog sloja, koja je u uobičajenim uvjetima oko 30  $\mu\text{m}$ , nakon obilnije hidratacije može povećati do čak 40  $\mu\text{m}$  (Bowustra i sur., 2003). S druge strane, najdublji slojevi epidermisa sadrže najviše vode pa su posljedično i pod manjim utjecajem vanjskih čimbenika. Slojevi epidermisa koji se nalaze između površinskog i bazalnog sloja u svojim keratinocitima sadrže visoke koncentracije prirodnih faktora vlaženja (engl. *natural moisturising factor*, NMF). Upravo je NMF zaslužan za održavanje odgovarajuće vlažnosti kože, a u najvećoj mjeri sastoji se od aminokiselina i njihovih metabolita, poput UCA-e i PCA-e,

produkata proteolize filagrina. Lipidi rožnatog sloja sudjeluju u zaštiti kože od prekomjerenog gubitka vode zahvaljujući svojim anatomskim i biokemijskim karakteristikama. Dakle, smanjenje razine ceramida, kolesterola i slobodnih masnih kiselina intracelularnog matriksa rezultirat će smanjenjem hidratiziranosti kože (Boer i sur., 2016).

Površinski sloj kože karakteriziran je kiselom pH vrijednošću koja oscilira između pH 4,0 i 6,0. Održavanje kiselog pH kože ovisi o aktivnosti lipolitičkih enzima koji metaboliziraju intracelularne lipide rožnatog sloja. Pritom nastaju slobodne masne kiseline, a bitna je i razina drugih metabolita poput mliječne kiseline i aminokiselina. Odgovarajući pH kože utječe na kožnu mikrobiotu, pa je uočeno da se uslijed povišenja pH povećava kolonizacija patogenim bakterijama i gljivicama. Više vrijednosti pH rezultirat će i povećanjem TEWL-a, ali i smanjenjem integriteta kožne barijere uslijed promjena u organizaciji intracelularnih lipida, najvjerojatnije kao posljedica hidrolitičkih reakcija (Boer i sur., 2016).

## 4.2. SPECIFIČNOSTI GRAĐE KOŽE U AD-u

### 4.2.1. Filagrin

AD je, bolest kompleksne etiologije sa snažnom genetskom pozadinom, a uključuje poremećaj barijerne funkcije kože i imunskog sustava. Najučestalija genska mutacija povezana s pojavom AD-a je mutacija FLG-a koja najčešće rezultira smanjenim stvaranjem ili gubitkom filagrina. Obzirom da se keratohijaline granule pretežito sastoje od profilagrina, proteina prekursora filagrina, smanjena ekspresija FLG-a rezultirat će i smanjenjem razine F-tipa keratohijalina, odnosno nedostatnim razinama keratohijalinih granula. To će rezultirati poremećajem u građi *stratum granulosum*, a posljedično i diferencijaciji i proizvodnji normalnog SC-a (Fleckman i Brumbaugh, 2002).

Protofilagrin se u normalnim uvjetima proizvodi u zrnastom sloju i skladišti u keratohijalinskim granulama u visoko fosforiliranoj formi. Defosforilacijom i proteolizom dolazi do otpuštanja monomera filagrina, strukturnog proteina SC-a koji u svojem slobodnom obliku veže intermedijarne filamente keratina stvarajući makrofibrile. Osim s filamentima keratina, prilikom izgradnje rožnatog omotača korneocita filagrin se veže i s drugim proteinima poput lorikrina i involukrina. Pomicanjem korneocita prema površini SC-a dolazi do odvajanja dijela filagrina, te u konačnici njegove razgradnje do različitih higroskopskih aminokiselina (alanin, histidin, glutamin i dr.) i njihovih derivata (UCA, PCA). Upravo ti metaboliti filagrina su, uz laktat, hijaluronsku kiselinu i dr., glavni sastojci NMF-a. Sastojcima nastalog NMF-a pripisuju se brojne uloge: hidratacija SC-a, fotozaštita, imunosupresivna svojstva, modulacija pH (pa posljedično i aktivnost mnogih enzima i antimikrobna svojstva), a putem interakcija s keratinom i keratinskim filamentima i elastičnost kože.

Dakle, u stanjima smanjenja razine ili nedostatka filagrina, a posljedično i njegovih razgradnih produkata, doći će do smanjene razine NMF-a koja se u najvećoj mjeri očituje smanjenjem vlažnosti i integriteta kože. Upravo je optimalna hidratacija rožnatog sloja potrebna za održavanje brojnih fizioloških procesa modulacijom aktivnosti enzima koji sudjeluju u procesu stvaranja i deskvamacije njegovih stanica. To su primjerice nastajanje lipidnih sastojaka, razgradnja profilagrina, filagrina i korneodezmosoma. Nedostatna vlažnost kože može potaknuti i stvaranje proupalnih faktora kao što je IL-1 (Čepelak i sur., 2016).



Uz mutacije FLG-a, brojne druge mutacije također imaju ulogu u patogenezi AD-a. Jedna od njih je i mutacija SPINK5 gena koji kodira inhibitor serinskih proteaza LEKTI (engl. *lymphoepithelial Kazal-type trypsin inhibitor*). Uslijed smanjene aktivnosti inhibitora ovih enzima povećava se degradacija korneodezmosoma i enzima koji sudjeluju u nastajanju lipidnih sastojaka, prije svega ceramida (Boothe i sur., 2017). Uočena je i pojačana učestalost mutacija CSTA gena koji kodira inhibitor proteaza cistatin A, a njegova smanjena ekspresija rezultirat će pojačanom razgradnjom korneodezmosoma i smanjenom barijernom funkcijom SC-a (Cork i sur., 2009).

#### **4.2.2. pH vrijednost kože**

Smanjenjem razine metabolita razgradnje filagrina, prije svega UCA-e i PCA-e, dolazi do povišenja pH vrijednosti površinskog sloja kože iz blago kiselih (između pH 4,0 i 6,0) u bazične. Takva promjena pH pogodovat će kolonizaciji patogenih mikroorganizama, kao što su *S. aureus*, *C. albicans* i dr., uslijed čega su u pacijenata s AD-om česte suprainfekcije već postojećih kožnih lezija (Čepelak i sur., 2016).

Promjene pH također mogu povećati aktivnost serinskih proteaza, koje su aktivnije u bazičnim uvjetima, što će rezultirati povećanom razgradnjom korneodezmosoma, a posljedično i smanjenom kohezijom SC-a (Čepelak i sur., 2016). Neke od njih su KLK5 i KLK7, serinske proteaze za čiju je aktivnost optimalna pH vrijednost unutar neutralnog ranga. Povišenjem pH može doći do povećanja aktivnosti ovih enzima čak i do 50%, a kako su uključeni u proces deskvamacije, njihova hiperaktivnost može rezultirati stanjenjem kožne barijere. Beta-glukocerebrozidaza i sfingomijelinaza, enzimi koji sudjeluju u procesu nastajanja lipidnih sastojaka, također imaju optimalan učinak unutar fiziološkog pH kože, pa će promjene pH vrijednosti dovesti i do promjene njihove aktivnosti (Boothe i sur., 2017).

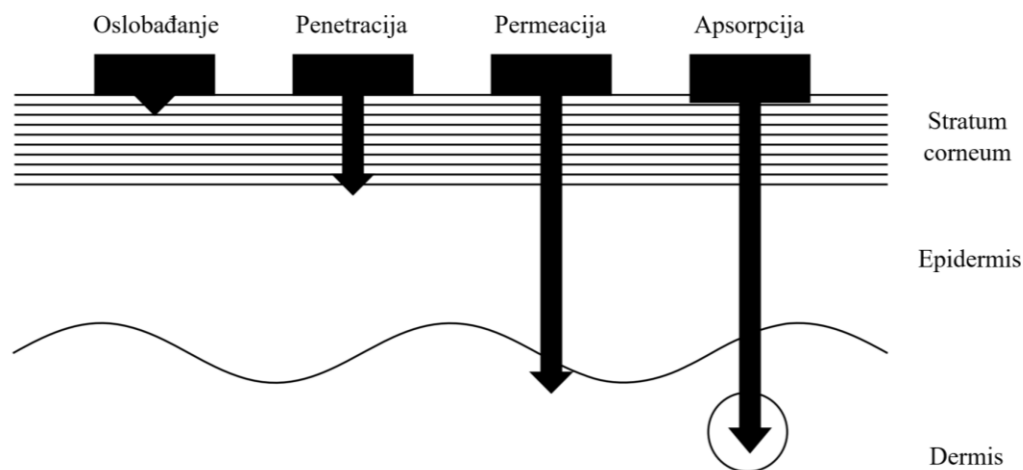
#### 4.2.3. Čvrsti spojevi stanica (engl. *tight junctions*)

Čvrsti spojevi stanica (engl. *tight junctions*) su veze između epitelnih stanica, a njihova važna funkcija je održavanje barijerne funkcije kože jer ograničavaju resorpciju tvari u kožu i reguliraju transport iona i proteina. Izgrađene su od transmembranskih proteina, okludina i kladina te ZO-1 proteina. Obzirom da je u pacijenata s AD-om uočena smanjena razina kladina-1 i ZO-1 proteina u usporedbi sa zdravim pojedincima, poremećajem u stvaranju čvrstih spojeva stanica dolazi i do disfunkcije barijere rožnatog sloja. Potencijalan uzrok tome su promjene u Th2 i Th17 imunom odgovoru. Yuki i sur. (2016) dokazali su kako djelovanjem IL-17 dolazi do pojačane inhibicije sinteze ZO-1 proteina, kladina-1 i kladina-4, a posljedično i do smanjenja funkcije čvrstih spojeva stanica. Također je dokazano kako IL-17 smanjuje ekspresiju FLG-a, ali i drugih gena koji kodiraju strukture ključne za adheziju stanica.

### 4.3. TRANSPORT DJELATNIH TVARI KROZ KOŽU

Smatra se da gotovo 90% funkcije kožne barijere čini SC, tj. rožnati sloj. Razlikuje se od ostatka epidermisa svojom građom koja se najčešće opisuje tzv. modelom „cigle i žbuke“. Model su prvi puta predstavili Michaels i sur. (1975), a pritom „ciglu“ predstavljaju korneociti, dok „žbuku“ matriks intercelularnih lipida. Stanje kože ima značajan utjecaj na penetraciju tvari, pa će oštećena kožna barijera često rezultirati povećanjem apsorpcije. Osim barijerne funkcije rožnatog sloja, bitnu ulogu u određivanju obima topikalne apsorpcije tvari imaju i veličina kontaktne površine, duljina ekspozicije i sama svojstva topikalnog lijeka: naboj, polarnost, oblik, molekulska masa i dr. (Michaels i sur., 1975).

Topikalno primijenjen lijek može imati lokalni ili sistemski učinak. Nakon nanošenja pripravka na kožu dolazi do oslobađanja djelatne tvari iz podloge difuzijom, transporta djelatne tvari kroz rožnati sloj (penetracija), difuzije djelatne tvari u dermis i djelomično hipodermis (permeacija) te apsorpcije u limfu i krvne žile, što je shematski prikazano na Slici 9.



**Slika 9.** Shematski prikaz prijenosa djelatne tvari (lijeka) iz topikalnog pripravka u kožu.

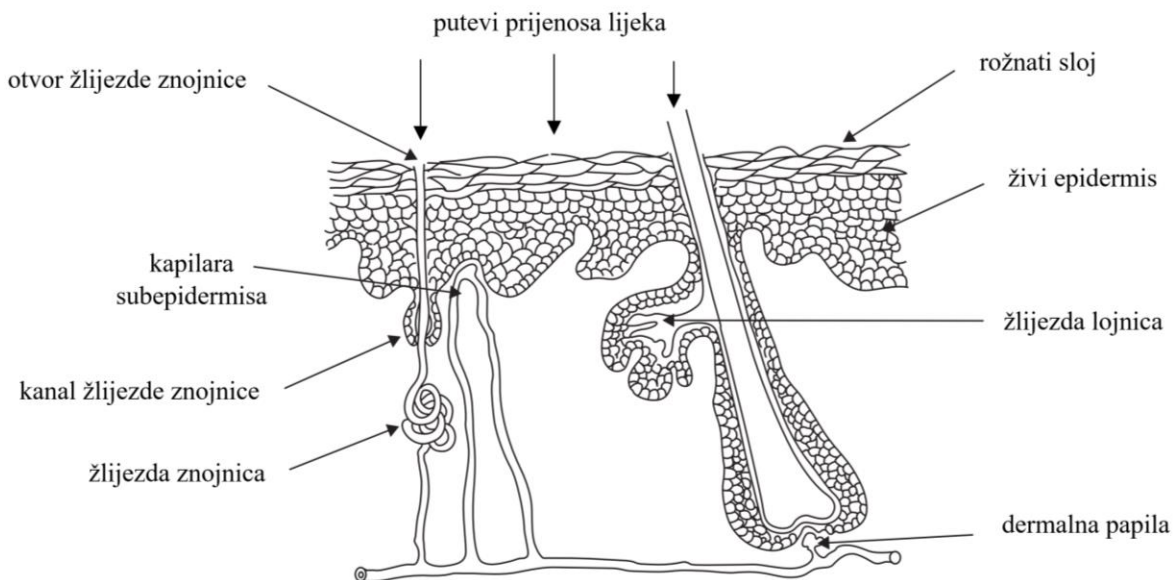
Prilagođeno prema Daniels i Knie, uz dozvolu *John Wiley and Sons*-a (2007).

Topikalni pripravci u kontaktu s kožom mogu kroz nju penetrirati na 3 potencijalna načina: direktno kroz epidermis (transepidermalno) ili putem kožnih privjesaka, žlijezda znojnice, (transsudoriferalno) ili folikula dlake i žlijezda lojnica (pilosebacealno), kako je prikazano na Slici 10.

Glavni put apsorpcije tvari s površine kože jest direktno kroz epidermis, tj. transepidermalno, a on obuhvaća intercelularni i transcelularni put prijenosa. Pritom intercelularni put, iako znatno dulji, dominira. Temelji se na uzastopnoj difuziji i razdjeljenju tvari između polarnih glava i alkilnih lanaca intercelularnih lipida. Hidrofobna svojstva lipida pospešuju otapanje lipofilnih tvari, stoga se smatra da lipidi rožnatog sloja uvelike utječu na regulaciju apsorpcije različitih tvari s površine kože. Apsorpcija tvari s površine kože uvelike ovisi o veličini korneocita rožnatog sloja i proporcionalna je kapacitetu intercelularnog prostora; dakle, obrnuto je proporcionalna veličini stanica. Ovisi i o veličini tvari, pa tako nepolarne tvari molekulske mase ispod 500 Da lako penetriraju kroz epidermis. Nakon što se djelatna tvar oslobodi iz formulacije dolazi do njenog razdjeljenja u rožnatom sloju, a zatim i u epidermisu te permeacije kroz slojeve epidermisa i u dermis. Limfne i krvne žile dermisa uklonit će lijek iz kože te njegovo djelovanje postaje sistemsko (Lane, 2013).

Transcelularni put je karakterističan za hidrofilne molekule, a obuhvaća penetraciju tvari kroz matriks korneocita i fosfolipidnih membrana. Iako najkraći, zbog velikog otpora permeaciji uslijed slabe permeabilnosti korneocita i višestrukog razdjeljivanja u SC-u, ovaj put ne smatra se dominantnim putem dermalne apsorpcije (Lane, 2013).

Apsorpcija tvari pomoću kožnih privjesaka (žlijezde znojnice, žlijezde lojnice, folikuli dlake) odvija se u znatno manjem udjelu, s obzirom da žlijezde lojnice i znojnice zauzimaju tek 0,1% ukupne površine kože (Lane, 2013). Ipak, smatra se puno bržim načinom permeacije uslijed manje selektivnosti i mogućnosti apsorpcije većih molekula. Upravo zato su područja s većim brojem žlijezda znojnice, poput lica ili gornjeg dijela torza, podložnija apsorpciji potencijalno proupalnih tvari što je često uzrok upalnim lezijama na koži (Boer i sur., 2016). Na ovaj način dolazi do apsorpcije tvari veće molekulske mase, uključujući nanosustave, te ioniziranih molekula lijeka uz primjenu ionoforeze. Također, ovaj tip prijenosa može pridonijeti ubrzanoj difuziji u ranijim fazama penetracije, prije uspostave ravnoteže (Lane, 2013).



**Slika 10.** Putevi prijenosa djelatne (aktivne) tvari u kožu. Prilagođeno iz Benson i Watkinson (2012), uz dozvolu *John Wiley and Sons-a*.

Aktivni i proteinima potpomognuti transport, ne odvija se u rožnatom sloju kože zato što korneociti nemaju jezgru zahvaljujući čemu ne mogu sintetizirati proteinske strukture potrebne za odvijanje takvog transportnog puta. Upravo zato je dominantan mehanizam prijenosa tvari iz podloge kroz kožu pasivna difuzija, što se može opisati 1. Fickovim zakonom difuzije prilagođenim dermalnoj primjeni, jednadžba (1) (Karadzovska i sur., 2013).

$$J = \frac{P \times D \times \Delta c}{h} \quad (1)$$

Pritom  $J$  označava fluks aktivne tvari ( $\mu\text{g cm}^{-2}\text{h}^{-1}$ ),  $P$  koeficijent raspodjele aktivne tvari između rožnatog sloja i vehikuluma,  $D$  koeficijent difuzije aktivne tvari u rožnatom sloju ( $\text{cm}^2\text{h}^{-1}$ ),  $\Delta c$  koncentracijski gradijent aktivne tvari ( $\mu\text{g cm}^{-3}$ ), a  $h$  debljinu rožnatog sloja (cm).

Iz 1. Fickovog zakona proizlazi da je brzina difuzije neke tvari proporcionalna njenom koncentracijskom gradijentu, odnosno da fluks tvari može porasti povećanjem koeficijenta raspodjele  $P$ , koeficijenta difuzije  $D$  ili koncentracijskog gradijenta  $\Delta c$  (Karadzovska i sur., 2013).

Osim svojstava epidermalne barijere kože, bitnu ulogu u određivanju obima apsorpcije imaju i svojstva samog pripravka, odnosno djelatne tvari. Jedno od važnih svojstava je veličina molekule, tj. molekulska masa djelatne tvari. Obzirom na to da je difuzija djelatne tvari kroz kožu pasivan proces, tvari manje molekulske mase putovat će kroz kožu brže od molekula s većim molekulskim masama. Uvriježeno je mišljenje da su idealni kandidati za dermalnu primjenu tvari molekulske mase manje od 500 Da (Benson i Watkinson, 2012).

Ioniziranost će također utjecati na penetraciju. Prijenos tvari kroz kožu ovisit će o stupnju ionizacije, pa tako ionizirane djelatne tvari imaju niži koeficijent permeabilnosti od neioniziranih. Ipak, nekada je bolje primijeniti lijek u ioniziranom obliku jer, iako će koeficijent permeabilnosti u tom slučaju biti niži, topljivost tvari će biti veća (Hadgraft, 2004). Najčešći put prijenosa ioniziranih molekula je kroz folikul dlake i žlijezdama znojnicama, no obim apsorpcije tvari ovim putem je znatno manji u odnosu na transepidermalni put (Benson i Watkinson, 2012).

Hidrofilnost, odnosno lipofilnost tvari također će utjecati na njezinu apsorpciju. Obzirom na to da lijek prilikom penetracije prolazi kroz lipofilni dio rožnatog sloja, a zatim i kroz nešto hidrofilniju okolinu epidermisa, mora posjedovati odgovarajući balans između lipofilnosti i hidrofilnosti. To svojstvo lijeka najčešće se opisuje pomoću koeficijenta raspodjele tvari u n-oktanolu i vodi, log P, koji se koristi kako bi se opisao prienos tvari između rožnatog sloja i hidrofilnih stanica epidermisa. Smatra se će kako veća lipofilnost lijeka najčešće rezultirati pojačanom permeacijom, te da su vrijednosti log P između 2 i 3 optimalne. S druge strane, vrlo lipofilne molekule će imati veliku topljivost u intercelularnim lipidima, no neće uspjeti prodrijeti iz rožnatog sloja u hidrofilniji epidermis, čime se limitira njihova permeacija (Benson i Watkinson, 2012).

Prilikom istraživanja molekula lijekova prikladnih za topikalnu primjenu, naglasak je najčešće na samoj molekuli lijeka, a ne na vehikulumu. Međutim, dobro je poznato da je prilikom perkutane apsorpcije vehikulum u kojem se lijek nalazi jednako važan kao i sam lijek. Također, često se vehikulumu dodaju i različite specifične komponente s ciljem povećanja obima apsorpcije lijeka ili povećanja stabilnosti i/ili aktivnosti samog lijeka (Karadzovska i Riviere, 2013).

#### **4.4. TRANSPORT NANOSUSTAVA KROZ KOŽU**

Budući da je glavna prepreka u razvoju klasičnih pripravaka za topikalnu primjenu upravo barijera rožnatog sloja, istraživanja znanstvene zajednice i farmaceutske industrije su usmjerena na razvoj inovativnih terapijskih mikro- i nano-sustava koji će se omogućiti dobru penetraciju i permeaciju djelatne tvari u kožu kako bi se postigla njezina dostatna koncentracija na ciljnom mjestu djelovanja, uz što manje nuspojava. Takvi sustavi posebice su značajni kada je riječ o slabo permeabilnim i/ili slabo topljivim djelatnim tvarima, iritirajućim supstancijama te polarnim molekulama i tvarima velike molekulske mase (npr. peptidi).

##### **4.4.1. Transport polimernih nanosustava kroz kožu**

###### **Polimerne nanočestice**

Transport pomoću kožnih privjesaka ima bitnu ulogu u penetraciji polimernih nanočestica u kožu. Tako je zabilježeno da se polimerne nanočestice nakon primjene u najvećoj mjeri pronalaze u blizini ili u samom folikulu dlaka. To se svojstvo iskorištava za selektivnu primjenu lijekova kojima su upravo dlačni folikuli ciljno mjesto djelovanja, kao što je tretiranje alopecije (Alvarez-Roman i sur., 2004).

###### **Polimerne micelle**

Prilikom istraživanja potencijalnih mehanizama penetracije polimernih micela u kožu Bachhav i sur. (2011) su pokazali dominaciju folikularnog transporta, dok su drugi istraživači potvrdili da micelle do određene dubine prodiru netaknute u kožu, a zatim se raspadaju oslobađajući uklopljeni lijek. Istodobno je dokazana i mogućnost intercelularnog transporta (Lapteva i sur., 2014).

#### **4.4.2. Transport lipidnih nanosustava**

##### **Liposomi**

Potencijal liposoma kao nosača lijekova za topikalnu primjenu prvi puta su opisali Mezei i Gulasekharam 1980. godine. Proučavajući kutanu apsorpciju triamcinolon acetona uočili su da je ona čak 4 do 5 puta veća u slučaju liposomskog losiona u usporedbi s konvencionalnim topikalnim pripravkom koji je sadržavao triamcinolon acetamid u istoj koncentraciji (Mezei i Gulasekharam, 1980).

Liposomi predstavljaju najzastupljeniji terapijski nanosustav za dostavu lijekova (djelatnih, aktivnih tvari) u kožu. Ipak, mehanizam njihove penetracije u kožu nije u potpunosti razjašnjen. Jedna od teorija nalaže kako liposomi u određenoj mjeri prodiru kroz rožnati sloj, a zatim interakcijom s lipidnim lamelama rožnatog sloja oslobađaju uklopljeni lijek. S druge strane, postoji vjerojatnost i da samo njihove komponente, nakon adsorpcije tj. fuzije liposoma, prodiru u rožnati sloj. Tim teorijama svakako pridonosi činjenica kako su najučinkovitiji upravo liposomi izgrađeni od lipida najsličnijih lipidima rožnatog sloja. Nakon primjene pripravka s liposomima na kožu dolazi do akumulacije liposoma i lijeka koji je u njima uklopljen u rožnatom sloju i u gornjim dijelovima kože gdje liposomi služe kao spremnici lijekova, dok je penetracija lijeka u dublje slojeve kože te dosezanje sistemske cirkulacije minimalno (Benson, 2005). Dakle, konvencionalni liposomi povećavaju permeabilnost hidrofilnih lijekova, ali istodobno smanjuju sistemske apsorpciju lipofilnih lijekova djelujući kao njihovi spremnici u gornjim slojevima rožnatog sloja. Osim toga, pospješuju barijernu funkciju rožnatog sloja nadoknađujući izgubljene/oštećene lipide (fosfolipidne membrane) te smanjujući razinu TEWL-a.



## **Transferosomi**

Transferosome su prvi puta opisali Cevc i Blume (1992), no i dalje je tek mali broj formulacija s transferosomima dostupan u kliničkoj praksi. Uobičajeno sadrže 10-25% jednolančanog surfaktanta u fosfolipidnom dvosloju no mogu sadržavati i određen, manji, udio etanola (3-10%). Pritom surfaktanti služe kao rubni aktivatori koji destabiliziraju čvrstoću fosfolipidnog dvosloja, odnosno povećavaju deformabilnost vezikula, te zbog svoje građe i elastičnosti transferosomi imaju sposobnost prodiranja u dublje slojeve SC-a i žive slojeve epidermisa kroz kanaliće uže od 1/10 njihova promjera (Rajan i sur., 2011). Količina surfaktanta je ključna, a može varirati od minimalnih 4 pa sve do 20%. Ipak, pri višim razinama surfaktanta (iznad 15%) veća je i vjerojatnost formiranja miješanih micela, pa će se dio lijeka uklopiti u micelle, odnosno količina lijeka uklopljena u transferosome bit će manja (Fernández-García i sur., 2020).

Kada se pripravak s transferosomima primjeni na kožu, transferosomi prodiru u kožu intercelularno. Smatra se da je sila koja potiče njihovu penetraciju kroz kožu transdermalni osmotski gradijent uzrokovan razlikama u hidrataciji pojedinih slojeva kože. Dok površinski slojevi kože sadrže svega 15% vode, slojevi živog epidermisa sadrže oko 75%. Pritom hidrofilne lipidne vezikule stupaju u energetski povoljne interakcije koje im omogućavaju prelazak područja s nižom razinom vode u područja s višom. Dakle, transferosomi su podložni dehidraciji i, kako bi ju izbjegli, mijenjaju svoju strukturu i penetriraju kroz rožnati sloj ka hidratiziranim područjima radi rehidracije. Iako imaju sposobnost deformacije dvosloja, volumen unutrašnjosti se značajnije ne mijenja, pa se samim time ne mijenja ni topljivost lijeka koja se u njima nalazi. Ipak, manja oštećenja vezikula tijekom prolaska kroz barijeru kože mogu se dogoditi, prilikom čega dolazi do djelomičnog oslobađanja uklopljenog sadržaja i vodene faze iz transferosoma. Ta količina izgubljene tekućine nadoknadit će se tijekom procesa rehidracije vodom iz živog dijela epidermisa (Rajan i sur., 2011). Pritom može doći i do tzv. *burst* efekta, odnosno naglog oslobađanja manje količine lijeka pohranjenog u hidrofilnoj unutrašnjosti liposoma (Fernández-García i sur., 2020).

## **Etosomi**

Etosomi su vezikule izgrađene od fosfolipida, vode i visokog udjela etanola (20-45%). Upravo zbog visokog udjela etanola koji je poznat kao promotor apsorpcije (penetracije u kožu) slično kao i fosfolipidi, etosomi se odlikuju visokom sposobnošću prodiranja u dublje slojeve epidermisa i dermis, čime je moguće postići i sistemski učinak uklopljenog lijeka. Etanol fluidizira fosfolipide etosoma i lipide rožnatog sloja čime olakšava penetraciju etosoma u kožu (Benson, 2005). Također imaju i sposobnost deformacije, odnosno lokalne i reverzibilne promjene svoje strukture, što im dodatno olakšava prodiranje u rožnati sloj kože.

## **SLN**

Smatra se da je povećani obim apsorpcije primjenom SLN-a posljedica povećanja hidratacije kože uslijed okluzivnog učinka kojeg SLN stvaraju na površini kože (Benson, 2005). Na pojačanje permeacije također utječe i dulji konatakt nanosustava s uklopljenim lijekom s površinskim slojem rožnatog sloja te interakcija lipida SLN-a s lipidima rožnatog sloja (Roberts i sur., 2016). S druge strane, uklapanje lijekova u SLN može rezultirati i smanjenjem permeabilnosti. Ta pojava je najvjerojatnije uzrokovana povećanom rigidnošću nanočestica kao posljedica korištenih lipida visokog tališta (Mandawgade i Patravale, 2008).

## **NLC**

NLC-i predstavljaju drugu generaciju čvrstih lipidnih čestica. U usporedbi s SLN-om pokazuju bolje uklapanje lijekova i fizički su stabilnije. Mehanizam kojim je postignuta bolja penetracija i permeacija uklopljenog lijeka u kožu temelji se na okluzivnom učinku NLC-a slično SLN-ovima te njihovoj interakciji s lipidima rožnatog sloja. Tekuća lipidna komponenta prisutna u NLC-ova poboljšava solubilizaciju, odnosno uklapanje lijeka u NLC, što se posljedično odražava na povećano odlaganje lijeka u kožu (Roberts i sur, 2016).

### **4.4.3. Transport nanosustava temeljenih na surfaktantima**

#### **Niosomi**

Zbog prisutnih neionskih surfaktanata u svojoj strukturi, niosomi olakšavaju penetraciju i permeaciju uklopljenog lijeka u dublje slojeve epidermisa i dermis. Adosrbiraju se na biološke membrane i stupaju u interakcije fuzijom ili endocitozom, čime otpuštaju uklopljeni lijek u citoplazmu. Također povećavaju barijernu funkciju rožnatog sloja i hidrataciju smanjenjem TEWL-a. (Ghasemiyeh i Mohammadi-Samani, 2020).

#### **Mikroemulzije**

Poboljšanoj penetraciji mikroemulzija u koži pridonose sastavnice mikroemulzije poput emulgatora, ko-emulgatora i lipidnih tvari . One povećavaju permeaciju lijekova interakcijama s lipidima rožnatog sloja ili povećanjem topljivosti lijeka u koži, odnosno povećanjem koeficijenta raspodjele lijeka. Ovisno o lipidima koji čine lipidnu fazu mikroemulzija, one će pokazati okluzivan učinak što se odražava u smanjenju TEWL-u i povećanju hidratacije kože čine se dodatno povećava apsorpcija (Lopes, 2014).

#### **Nanoemulzije**

Nanoemulzije su karakterizirane nešto manjom količinom surfaktanata u odnosu na mikroemulzije, što im osigurava bolju fiziološku podnošljivost. Na penetraciju i permeaciju lijeka iz nanoemulzije utječe više različitih čimbenika, poput povećane topljivosti lijeka, zahvaljujući čemu je potrebna manja količina pripravka za postizanje terapijskog učinka. Nadalje, velika dodirna površina kapljica unutarnje faze i dobra okluzivna svojstva omogućavaju nanoemulzijama odlično prijanjanje na površinu rožnatog sloja. I konačno, uljna faza i surfaktanti mogu imati direktan učinak na pojačanje permeacije interakcijom s lipidima rožnatog sloja (Roberts i sur., 2016).

## **4.5. NANOSUSTAVI U TERAPIJI AD-a**

Uobičajena terapija blagih i srednje teških oblika AD-a uglavnom se zasniva na topikalnim kortikosteroidima i inhibitorima kalcineurina, uz redovitu uporabu blagih sredstava za čišćenje kože, kao što su sindeti, te emolijentnih sredstava za njegu. Učestala primjena topikalnih kortikosteroida i inhibitora kalcineurina sa sobom povlači i brojne lokalne nuspojave kao što su iritacija kože na mjestu primjene, eritemi, atrofija i strije. Stoga se tijekom zadnjih dvadesetak godina nanosustavi intenzivno proučavaju kao suvremene formulacije lijekova za učinkovitiju topikalnu terapiju. Njihova superiornost proizlazi iz činjenice da znatno učinkovitije dostavljaju lijekove na njihovo ciljano mjesto djelovanja, čime se smanjuje količina lijeka u formulaciji potrebna za ispoljavanje terapijskog učinka, a samim time i vjerojatnost nuspojava. Također, zbog uklapanja lijekova unutar nanosustava, moguće je postići modificirano oslobađanje lijekova, što će u najvećem broju slučajeva produljiti njihov učinak postepenim oslobađanjem uklopljene djelatne tvari. Nanosustavi dodatno štite nestabilne lijekove (aktivne/djelatne tvari) od razgradnje, pospješuju njihove karakteristike i omogućuju bolju apsorpciju. Kao posljedica boljeg sigurnosnog profila, odnosno manje vjerojatnosti pojave nuspojava, ali i veće učinkovitosti i manje potrebe za učestalom primjenom, povećavaju i adherenciju pacijenata.

### **4.5.1. Polimerni nanosustavi u terapiji AD-a**

#### **Polimerne nanočestice**

Zbog svoje biokompatibilnosti i bioadhezivnosti kitozan se često koristi prilikom izrade polimernih nanočestica. Neka svojstva, kao što je dulje zadržavanje na koži, poboljšana su ukoliko je na površinu nanočestica vezana hijaluronska kiselina vrlo vjerojatno kao posljedica tendencije stvaranja filma na površini kože, čime se produljuje kontakt s površinom kože na koju je pripravak nanesen. Upravo ta spoznaja do izražaja je došla i u istraživanju koje su proveli Pandey i sur. (2018). Ispitali su učinak betametazon valerata uklopljenog u kitozanske nanočestice obložene hijaluronskom kiselinom (HA-BMV-CS-NP) na animalnom modelu. Pritom su uočili da je ukupna količina betametazon valerata otpuštena iz HA-BMV-CS-NP bila manja nego količina lijeka otpuštena iz BMV-CS-NP, najvjerojatnije kao posljedica

mukoadhezivnih svojstava hijaluronske kiseline i kitozana zbog kojih će nanočestice ostati dulje na koži te će se iz njih lijek otpuštati kontroliranom brzinom.

Hussain i sur. (2013) su ispitali učinak hidrokortizona (kortikosteroid) i hidroksitirozola (antioksidans) uklopljenih u kitozanske nanočestice kako bi se smanjio negativan sistemski učinak hidrokortizona te postigao jači i lokalizirani protuupalni i antioksidativni učinak. Ispitivanja su provedena na animalnom modelu (miševi). Nanočestice su formulirane u obliku kreme obogaćene lipidima (V/U emulzija) koja je ispoljavala okluzivni učinak, čime se produljilo vrijeme kontakta pripravka i kože, ali i hidratacija rožnatog sloja, što je u konačnici rezultiralo boljom permeacijom. TEWL je bio značajno manji kao i intenzitet eritema. Dodatna istraživanja pokazala su značajno smanjenje imunskih markera poput IgE-a, histamina, omjera  $T_{H1}/T_{H2}$ , prostaglandina  $E_2$ , vaskularnog endotelnog faktora rasta  $\alpha$  (VEGF- $\alpha$ ) i proupalnih citokina u serumu (Hussain i sur., 2014).

Siddique i sur. (2019) proučavali su učinak nanočestica istog sastava djelatnih tvari na koži dobrovoljaca s AD-om. Pritom je pripravak s nanočesticama formuliran kao krema, a nanosio se na kožu ruku dobrovoljaca tijekom 28 dana. Mjerenja TEWL-a, jačine eritema i iritacije, ali i opsežnija hematološka i biokemijska ispitivanja, pokazala su kako su ovakvi pripravci s nanočesticama sigurni, dobro podnošljivi i netoksični, te stoga imaju veliki potencijal u liječenju AD-a u usporedbi s konvencionalnim formulacijama.

Obzirom na brojne nuspojave do kojih dolazi kao posljedica dugotrajnije primjene topikalnih kortikosteroida, u terapiji kožnih lezija pacijenata sa srednje teškim oblikom AD-a često će se pronaći topikalni inhibitori kalcineurina, kao što je takrolimus koji se nalazi u Protopic® masti (Astellas Ireland Co. Ltd., Killorglin, County Kerry, Irska). Mast se na tržištu može pronaći u dvjema različitim koncentracijama; 0,03% i 0,1% (Yu i sur., 2018).

Iako topikalnom primjenom takrolimusa neće doći do pojave ozbiljnijih nuspojava kao što su one koje se vežu uz topikalne kortikosteroide, njihova primjena svakako ne prolazi bez pojave drugih. Tako je u velikom broju slučajeva zapažena pojava osjeta žarenja na mjestu primjene, što će nerijetko uzrokovati lošu adherenciju pacijenata, a posljedično i prekid terapije. Usprkos tome, takrolimus pokazuje odlična antipruritična i protuupalna svojstva, stoga ne bi trebalo zanemariti njegov potencijal u terapiji AD-a. Prilikom formuliranja topikalnog pripravka

takrolimusa veliki problem predstavlja njegova visoka molekulska masa (822,05 Da), hidrofobnost ( $\log P$  6,09) i slaba topljivost u vodi, zahvaljujući čemu ima smanjenu permeabilnost. Zato se klasični topikalni pripravci takrolimusa moraju nanositi u obilnim količinama, što rezultira i većom učestalošću nuspojava. Yu i sur. (2018) ispitivali učinak takrolimusa uklopljenog u nanočestice izgrađene od kombinacije kitozana i nikotinamida. Nikotinamid je korišten kao hidrotropni agens, odnosno kako bi se poboljšala sposobnost ugradnje takrolimusa, izrazito hidrofobnog lijeka, u hidrofilne kitozanske čestice, a takvom kombinacijom se također postiže i bolja permeacija lijeka te dulje zadržavanje u koži. Primjenom takve formulacije takrolimusa na miševima poboljšana je apsorpcija u usporedbi s Protopic<sup>®</sup>-om, tj. bila je potrebna i do 3 puta manja doza kako bi se postigao odgovarajući terapijski učinak uz znatno manju učestalost nuspojava.

Barbosa i sur. (2019) su istraživali učinak metotreksata uklopljenog u nanočestice izgrađene od različitih omjera fukoidana i kitozana. Primjenom nanočestica na koži postignuta je i do 3,3 puta veća apsorpcija u usporedbi s konvencionalnim pripravkom. Mjerenjima je utvrđeno smanjenje otpuštanja proupalnih citokina, kao što su IL1- $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$ . Također, pokazalo se kako su ovakve nanočestice biokompatibilne s fibroblastima i keratinocitima. Zbog netoksičnosti, stabilnosti prilikom skladištenja na 4 °C, dobre penetracije lijeka u kožu i protuupalnog učinka ovakvog pripravka, formulacija je pokazala dobar potencijal za liječenje upalnih bolesti kože.

Poboljšanje farmakokinetičkih svojstava nekih drugih imunomodulatora, poput ciklosporina A, također je postignuto korištenjem polimernih nanočestica. Iako oralno primijenjen ciklosporin A pokazuje odlične rezultate uslijed dugotrajne primjene uzrokuje ozbiljne nuspojave poput renalne disfunkcije, kronične nefrotoksičnosti i hipertenzije. Stoga se topikalna primjena ovog lijeka čini kao znatno bolji izbor, no zbog njegove visoke molekulske mase i slabe topljivosti u vodi takvo što se ne može postići konvencionalnim formulacijama. Badihi i sur. (2020) su proučavali učinak ciklosporina A uklopljenog u polimerne nanočestice pripravljene od polimera mliječne i glikolne kiseline (PLGA). Obzirom da su takve nanočestice osjetljive na prisustvo vode, odnosno u vodenoj sredini se postepeno raspadaju, moraju biti uklopljene u topikalne formulacije bez vode. Karakterizirane su izrazito visokom količinom uklopljenog lijeka (od čak preko 90%), a nakon primjene takve formulacije, 20% inicijalne doze zabilježeno je u slojevima stanica rožnatog

sloja. Iako je količina lijeka koja je u konačnici dospjela u slojeve živog epidermisa i dermisa bila znatno niža, i dalje je bila unutar intervala terapijskih vrijednosti. Štoviše, primjenom pripravka poboljšana je barijerna funkcija kože, smanjenje razina IFN- $\gamma$  i otpuštanje proupalnih citokina.

### **Polimerne micelle**

Lapteva i sur. (2014) su se također bavili problematikom perkutane apsorpcije takrolimusa, odnosno pitanjem do koje mjere će se obim apsorpcije promijeniti ukoliko takrolimus bude uklopljen u polimerne micelle građene od derivata poli(mliječne kiseline). Primjenom nanoformulacije postignuto je znatno učinkovitije deponiranje lijeka u usporedbi s konvencionalnim pripravcima, kao što je Protopic<sup>®</sup> mast. Lijek je pritom deponiran unutar rožnatog sloja, živog epidermisa i gornjih slojeva dermisa. Obzirom da veće količine lijeka nisu opažene u dubljim slojevima dermisa, rezultati provedenog istraživanja ukazuju na mogućnost povećanja razine takrolimusa u ciljnim tkivima bez da se poveća rizik od sistemske apsorpcije i nuspojava.

## **4.5.2. Lipidni nanosustavi u terapiji AD-a**

### **Liposomi**

Jedna od prvih studija koja je ispitivala učinak topikalno primjenjenih liposoma datira još iz 90-ih godina prošlog stoljeća. Korting i sur. (1990) su u dvostruko-slijepoj, randomiziranoj kliničkoj studiji (10 pacijenata s ekcemima i psorijazom) ispitivali učinak betametazon dipropionata uklopljenog u liposome u usporedbi s konvencionalnom gel formulacijom koja je sadržavala istu djelatnu komponentu. Pritom se liposomski pripravak pokazao učinkovitim, smanjujući upalu, eriteme i ljuskanje kože. Temeljem tih rezultata, Eroğlu i sur. (2014) ispitivali su učinak kombinacije betametazon valerata i diflukortolon valerata uklopljenih u liposome obložene kitozanom na koži štakora. Praćenjem vrijednosti TEWL-a i intenziteta eritema potvrdili su učinkovitost takve inovativne formulacije topikalnih kortikosteroida koristeći i do 10 puta nižu dozu lijekova u usporedbi s konvencionalnim pripravcima.

Liposomi se, osim kao nosači lijekova, mogu koristiti i kao nosači nukleotidnih slijedova. Kao što je ranije spomenuto, povećana produkcija IL-13 ima bitnu ulogu u patogenezi AD-a, iz čega se može zaključiti da bi inhibicija iste mogla rezultirati značajnijim poboljšanjem simptoma bolesti. Tako su Kim i sur. (2009) proučavali učinak liposomske formulacije IL-13 antisense oligonukleotida (ASO) na modelima miševa s AD-om. Pritom je došlo do drastične supresije produkcije IL-13, ali i IL-4 i IL-5. Također je došlo i do smanjenja infiltracije regija epidermisa i dermisa upalnim stanicama, a posljedično i do smanjenja zadebljanja kože.

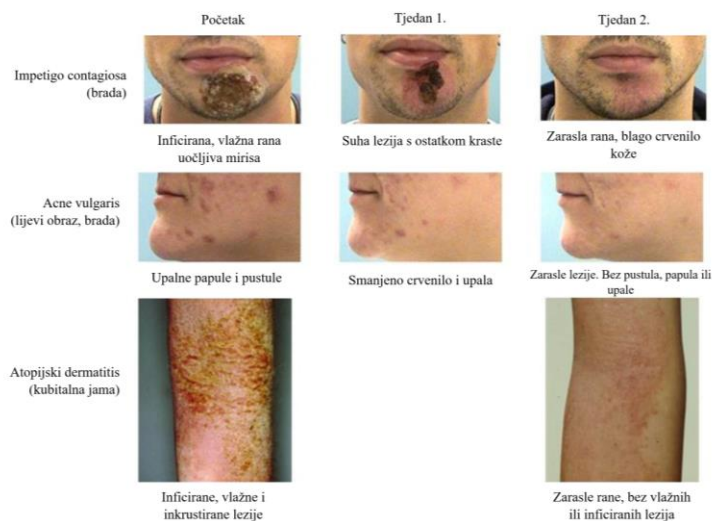
Taksifolin glikozid je flavonoid izoliran iz biljke *Rhododendron mucronulatum* poznat po svom imunomodulatornom učinku. Istraživanja, poput onog koje su proveli Ahn i sur. (2010), dokazala su njegovu učinkovitost u terapiji AD-a u vidu smanjenja razina proupalnih citokina. Kako bi postigli uspješniju penetraciju taksifolina, Kang i sur. (2010) formulirali su taksifolin uklopljen u elastične liposome konjugirane s Pep-1 peptidom. Pritom je postignuta znatno bolja apsorpcija, a posljedično i značajnije poboljšanje simptoma AD-a. Također je došlo i do snižavanja razina IL-4, IgE i IFN- $\gamma$ .

Iako se vitamin B<sub>12</sub> već ranije pokazao učinkovitim u terapiji AD-a, problem prilikom topikalne primjene je njegova nestabilnost na svjetlu i slaba permeabilnost, što se odražava slabim terapijskim učinkom. Kako bi se poboljšala permeabilnost i stabilnost adenoilkobalamina, Jung i sur. (2011) su pripravili hidrogel s adenoilkobalaminom uklopljenim u liposome (Lipo-AdCbl-gel). Primjenom nanoformulacije značajno je poboljšana penetracija lijeka kroz kožu što se odrazilo i kroz terapijske učinke, odnosno smanjenje intenziteta upalnih lezija, zadebljanja kože i serumskog IgE-a. S druge strane, učinak konvencionalnih formulacija AdCbl, kao što su otopina i krema, bio je znatno slabiji.

Brojne upalne bolesti kože, kao što su *acne vulgaris*, *impetigo contagiosa*, rosacea i AD, popraćene su (ili uzrokovane) kolonizacijom patogenim bakterijama. Danas ih je zbog bakterijske rezistencije, koja je sve raširenija, sve teže liječiti. Augustin i sur. (2017) ispitivali su učinak hidrogela s liposomski-uklopljenim antiseptikom polivinil piroolidon jodom (PVP-jodom) u terapiji različitih upalnih dermatosa. Nakon  $\leq 4$  tjedna primjene topikalnog priprava došlo je do smanjenja osjeta boli i površine tijela zahvaćene ekcemom (Slika 11) te do poboljšanja



kvalitete života pacijenata S druge strane, zapažene su nuspojave kao što su osjećaj žarenja i svrbež.



**Slika 11.** Učinak hidrogela s liposomskim PVP-jodom na područja zahvaćena impetigom, aknama i AD-om. Prilagođeno prema Augustin i sur. (2017), uz dozvolu *Dove Medical Press*-a.

Korištenje male interferirajuće RNA (engl. *small interfering RNA*, siRNA) predstavlja novi pristup liječenju AD-a. Usprkos činjenici da ovakva terapija rezultira odličnim ishodima liječenja sa znatno manjim nuspojavama u usporedbi s konvencionalnom terapijom, primjena topikalnih pripravaka koji sadrže siRNA još uvijek nije raširena. Glavnu prepreku predstavlja otežan prodor siRNA kroz rožnati sloj epidermisa zahvaljujući čvrstim spojevima među stanicama. Ibaraki i sur. (2019) su proučavali učinak anti-nuklearni faktor kappa B (anti-NF- $\kappa$ B) siRNA uklopljenih u elastične liposome. Pritom su liposomi sadržavali i peptid AT1002 za koji je prethodno dokazano kako uspješno otvara čvrste spojeve među stanicama, pa je zato u ovoj formulaciji korišten kako bi pospješio penetraciju siRNA. Primjenom te formulacije poboljšana je apsorpcija siRNA u kožu u usporedbi s formulacijama u kojima siRNA nije bila uklopljena u nosač, što se odrazilo smanjenjem simptoma AD-a i razine proupalnih citokina u miševa.

## **Transferosomi**

Levocetrimin, aktivni enantiomer cetrimina, pripada trećoj generaciji antihistaminika. Koristi se u terapiji različitih alergijskih bolesti kao što su AD, kronična idiopatska urtikarija i alergijski rinitis. Kako bi postigli periferni antihistaminski učinak, Goindi i sur. (2014), formulirali su levocetrimin u obliku transferosoma. Ispitivanja na animalnim modelima pokazala su odličnu permeabilnost antihistaminika u kožu i značajno smanjenje svrbeža, eritema i dermalnih eozinofila.

## **Etosomi**

Li i sur. (2012) su uspoređivali svojstva etosomskog takrolimusa u usporedbi s komercijalnim pripravkom (Protopic<sup>®</sup> mast). Ispitivanjima na miševima dokazali dulje zadržavanje lijeka u koži i bolju permeabilnost te je bila potrebna manja količina lijeka za postizanje terapijskog učinka.

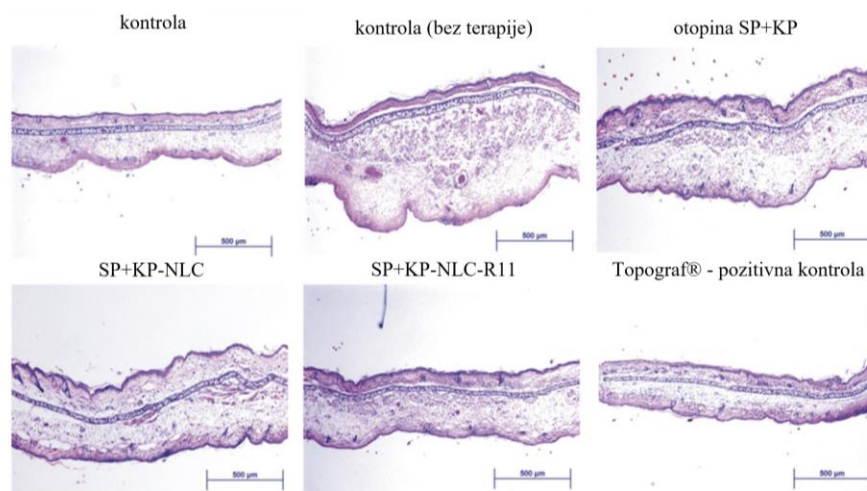
Fluocinolon acetonid je kortikosteroid koji se koristi u terapiji AD-a, no prilikom njegove topikalne primjene dolazi do ograničene penetracije u dublje slojeve epidermisa atopične kože. Stoga su Akhtar i sur. (2016) formulirali gel pripravak fluocinolon acetoniida uklopljenog u  $\beta$ -cikloetosome čime je postignuta znatno bolja apsorpcija lijeka u kožu.

## **SLN**

Za poboljšanje permeacije ciklosporina A u kožu, Kim i sur (2009) su razvili formulaciju ciklosporina A uklopljenog u SLN te su ispitivali njegov učinak na koži miševa. Rezultati su pokazali znatno bolju apsorpcije u usporedbi s konvencionalnim formulacijama te smanjenje simptoma AD-a u vidu smanjenja otpuštanja citokina Th2 stanica, IL-4 i IL-5.

## NLC

Kako bi se izbjegli neželjeni štetni učinci monoterapije topikalnim kortikosteroidima, Shah i sur. (2012) proučavali su učinak kombinacije antagonista neurokininskih receptora (Spanide II, SP) i nesteroidnog protuupalnog lijeka (ketoprofena, KP), na smanjenje simptoma upalnih bolesti kože. Naime, SP smanjuje proupalne učinke tvari P kompetitivno se vežući na neurokininske receptore stanica kože, dok KP inhibira sintezu prostaglandina i sazrijevanje Langerhansovih stanica. Oba lijeka su uklopili u NLC (SP+KP-NLC) te u NLC modificirane poliargininom (SP+KP-NLC-R11). Prilikom ispitivanja dermalne apsorpcije, SP+KP-NLC-R11 pokazao je znatno bolja svojstva permeacije, iz čega se zaključuje kako su modifikacije nanočestica ponekad nužne za penetraciju aktivnih tvari u dublje slojeve kože. Učinak SP-a i KP-a promatran je na tkivu mišjeg uha, modela alergijskog kontaktnog dermatitisa senzibiliziranog 2,4-dinitrofluorobenzenom. Intenzitet upale promatran je optičkim mikroskopom nakon 72 sata primjene otopine SP+KP, SP+KP-NLC, SP+KP-NLC-R11 te Topografa® (GlaxoSmithKline Pharmaceuticals Limited, Thane, India), komercijalnog pripravka takrolimusa koji je predstavljao pozitivnu kontrolu (Slika 11).



**Slika 12.** Mikroskopski prikaz intenziteta upale tkiva inducirane DNFB-om i tretirane otopinom SP+KP, SP+KP-NLC, SP+KP-NLC-R11 i Topograf®-om u usporedbi s kontrolom. Prilagođeno prema Shah i sur. (2012), uz dozvolu Elsevier-a.

Kao što je vidljivo na Slici 12, SP+KP-NLC je nakon topikalne primjene u znatno manjoj mjeri umanjio debljinu tkiva u usporedbi sa SP+KP-NLC. Potonji je također smanjio broj infiltriranih leukocita. Također se može uočiti kako je učinak Topgrafa<sup>®</sup>, odnosno takrolimusa, nešto jači. Takrolimus je nesteroidni imunosupresivi, te kao takav ima klinički dokazan učinak u terapiji AD-a, no potencijal kombinacije SP i KP svakako nije zanemariv.

Kong i sur. (2016) su ispitali učinak V/U emulzije betametazon dipropionat uklopljenog u NLC (BD-NLC) te emulgela izrađenog od BD-NLC i karbopola. V/U emulzija BD-NLC je pokazala bolje oslobađanje lijeka i njegovo zadržavanje u gornjim slojevima kože zahvaljujući lipofilnosti pripravka (V/U emulzija), betametazon dipropionata i samog SC-a, zbog čega imaju visok afinitet jedni za druge. S druge strane, hidrofilna okolina emulgela pokazala je nizak afinitet za lijek uslijed čega je postignuto slabije oslobađanje lijeka, ali i penetracija u dublje slojeve kože. *In vivo* ispitivanja na miševima pokazala su određen stupanj iritacije kože, no u znatno manjoj mjeri u usporedbi s pozitivnom kontrolom.

### 4.5.3. Nanosustavi temeljeni na surfaktantima u terapiji AD-a

#### Nanoemulzije

Nanoemulzije predstavljaju odlične formulacije pripravka za terapiju AD-a zahvaljujući svojim svojstvima poput povećanja topljivosti, stabilnosti i bioraspoloživosti lijekova, adsorpcije na kožu te povećanja hidratacije i elastičnosti kože.

Yilmaz i Borchert (2006) su proučavali učinak nanoemulzije pozitivnog naboja na površini disperzne faze koje su sadržavale ceramid 3B te lipide koji su sastavni dio rožnatog sloja, poput ceramida 3, kolesterola i palmitinske kiseline, na hidrataciju i elastičnost kože te intenzitet eritema. Pozitivan naboj posljedica je inkorporacije fitosfingozina, prekursora ceramida, u nanoemulzije. Pripravci su se nanosili na kožu dobrovoljaca, te je zahvaljujući pozitivnom naboju primjećena znatno bolja adsorpcija, a posljedično i pojačana hidratacija i elastičnost kože.

Nanoemulzija pripravljena s 10% rižinih mekinja pokazala je nizak potencijal izazivanja iritacija kože te je imala pozitivan učinak na hidrataciju kože. Sam pripravak je bio fizički stabilan čemu je doprinosila mala veličina kapljica nanoemulzije (Bernardi i sur., 2011).

Pioglitazon (PGZ) je agonist peroksisom-proliferator aktiviranih receptora (PPAR), te se kao takav koristi u terapiji diabetesa mellitusa tipa 2. Obzirom da pokazuje i imunomodulacijske učinke, njegova primjena razmatrana je i u terapiji različitih upalnih bolesti, među kojima i AD-a. Tako su Espinoza i sur. (2019) razvili nanoemulzije PGZ-a (PGZ-NE) kako bi istražili njegov protuupalni učinak na koži. Topikalnom primjenom postignuta je visoka permeabilnost lijeka u kožu, ali i zadržavanje u koži nalik depo pripravcima čime se produljuje terapijski učinak i smanjuje učestalost primjene pripravka. Osim što je primjenom PGZ-NE smanjena ekspresija proupalnih citokina IL-6, IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$ , čime je postignut protuupalni učinak, potvrđena je dobra podnošljivost formulacije na koži dobrovoljaca.

#### 4.6. PROBLEMI PRILIKOM RAZVOJA NANOTERAPEUTIKA

Usprkos mnogobrojnim *in vivo* studijama koje su dokazale potencijal primjene nanoterapeutika i obećavajućim rezultatima kliničkih ispitivanja I i II faze, mali broj nanoformulacija prolazi fazu III. Jedan od glavnih uzroka, osim učestalih razlika u ponašanju nanosustava u *in vitro* i *in vivo* uvjetima, je i nedostatak modela na kojima će se moći točno predvidjeti farmakološka aktivnost, toksičnost i nuspojave novih formulacija (Farjadian i sur., 2019). Danas animalni modeli, konkretno miševi, i dalje predstavljaju zlatni standard za provedbu pretkliničkih ispitivanja, no govoreći u kontekstu ispitivanja lijekova za lokalnu terapiju AD-a, svakako ne predstavljaju idealan model, posebice zbog kompleksne patofiziologije same bolesti. Nadalje, osim svega 30% sličnosti ljudskih i mišjih gena koji kodiraju strukture koje izgrađuju kožu i kožne privjeske, odnosno razlikama u građi istih, problem predstavlja i činjenica da miševi u normalnim uvjetima ne razvijaju AD, već se razvoj istog mora potaknuti primerice kemijskim stimulusima kao što je 2,4-dinitrofluorobenzen. Stoga će, usprkos obećavajućim rezultatima prilikom testiranja na životinjama, razvoj velikog broja nanosustava (čak oko 80%) zbog nepremostivih razlika u karakteristikama kože animalnih modela i ljudi rezultirati neuspjehom (Löwa i sur., 2018).

Krajnji cilj razvoja nanoformulacija je svakako plasiranje konačnog proizvoda na tržište, prilikom čega se također nailazi na brojne prepreke. Neke od njih su manjak kontrole kvalitete, poteškoće u separaciji neželjenih nanostrukture (primjerice nusprodukata i ishodnih sirovina), prenošenju iz laboratorijskih u industrijske uvjete proizvodnje, povećanju obima proizvodnje te reproducibilnosti od šarže do šarže (posebice u vidu raspona veličina čestica, naboja, poroznosti i mase), ali i visokih troškova proizvodnje. Problem predstavlja i manjak spoznaja o interakcijama humanih stanica i nanosustava (dakle biokompatibilnosti, odnosno toksičnosti) te o optimizaciji nanočestica za maksimalan terapijski učinak. Nadalje, oskudnost fondova i manjak inicijative farmaceutske industrije za razvoj nanoterapeutika, kao i nepredvidivost smjernica regulatornih agencija te fokus medija na negativne aspekte nanomaterijala (često bez znanstvene podloge) dodatno otežavaju situaciju (Hafner i sur., 2014).

## 5. ZAKLJUČAK

Primjena nanosustava u terapiji AD-a je od velikog medicinskog značaja. Osim što se time poboljšavaju fizikalna i kemijska svojstva samih lijekova, njihovom primjenom se postiže bolja permeacija i vrijeme zadržavanja perkutano primijenjenih lijekova, a posljedično i njihova veća bioraspoloživost. Također, u usporedbi s konvencionalnim pripravcima, potrebne su manje doze za postizanje terapijskog učinka, zahvaljujući čemu je i učestalost pojave nuspojava znatno niža. Svi ti faktori u konačnici dovode do značajnijeg poboljšanja ne samo kliničke slike već i kvalitete života pacijenata.

S druge strane, iako su brojna ispitivanja dokazala visok potencijal nanosustava, pa čak i njihovu superiornost nad konvencionalnim formulacijama, neproporcionalno mali broj istih je komercijalno dostupan. Uzrok tome je kombinacija brojnih čimbenika, kao što su poteškoće u proizvodnji takvih pripravaka u industrijskim kapacitetima, upitna biokompatibilnost i sigurnost te konačna isplativost razvoja takvog terapijskog nanosustava. Usprkos tome, danas se na tržištu može pronaći preko 50 odobrenih formulacija temeljenih na nanosustavima, dok je oko 100 njih u različitim fazama kliničkih ispitivanja, a svega 18 ih je ušlo u kliničku fazu unazad 3 godine (Martins i sur., 2020).

Zaključno, bliska suradnja i usuglašenost regulatornih agencija i drugih nadležnih tijela s timovima koji rade na razvoju ovakvih inovativnih sustava je ključna. Naglasak je potrebno staviti i na razvoj specifičnih protokola kojima se mogu provesti detaljnija ispitivanja biokompatibilnosti nanoformulacija pogotovo kad je riječ o dugotrajnoj primjeni istih, te na važnost identifikacije ključnih elemenata kao što je preporučena doza, protokol proizvodnje na veliko (industrijski razmjeri) kako bi se osigurala reproducibilnost proizvodnje i kvaliteta konačnog proizvoda.

## POPIS KRATICA KORIŠTENIH U DIPLOMSKOM RADU:

AD, atopijski dermatitis

FLG, gen za filagrin

IFN-  $\gamma$ , interferon gama

Ig, imunoglobulin

IL, interleukin

KP, ketoprofen

NLC, nanostrukturirani lipidni nosač

NMF, prirodni faktor vlaženja

PAT, površinski aktivna tvar

PCA, pirolidon-karboksilna kiselina

PGZ, pioglitazon

SC, lat. *stratum corneum*

SCORAD, engl. *Severity Scoring Atopic Dermatitis*

SLN, čvrsta lipidna nanočestica

SP, serinska proteaza

SPINK5, engl. *Serine Peptidase Inhibitor Kazal Type*

TEWL, transepidermalni gubitak vode

Th, pomoćnička T-stanica

UCA, urokanična kiselina



## 6. LITERATURA

Ahn JY, Choi SE, Jeong MS, Park KH, Moon NJ, Joo SS, Lee CS, Choi YW, Li K, Lee MK, Lee MW, Seo SJ. Effect of taxifolin glycoside on atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *Phytother Res.* 2010;24(7):1071.

Akhtar N, Verma A, Pathak K. Investigating the penetrating potential of nanocomposite  $\beta$ -cycloethosomes: development using central composite design, in vitro and ex vivo characterization. *J Liposome Res.* 2018;28(1):35-48.

Alvarez-Román R, Naik A, Kalia YN, Guy RH, Fessi H. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. *J Control Release.* 2004;99(1):53-62.

Al-Shobaili HA, Ahmed AA, Alnomair N, Alobead ZA, Rasheed Z. Molecular Genetic of Atopic dermatitis: An Update. *Int J Health Sci (Qassim).* 2016;10(1):96-120.

Augustin M, Goepel L, Jacobi A, Bosse B, Mueller S, Hopp M. Efficacy and tolerability of liposomal polyvinylpyrrolidone-iodine hydrogel for the localized treatment of chronic infective, inflammatory, dermatoses: an uncontrolled pilot study. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2017;10:373-384. doi: 10.2147/CCID.S141887.

Avena-Woods C. Overview of atopic dermatitis. *Am J Manag Care.* 2017;23(8 Suppl):S115-S123

Bachhav YG, Mondon K, Kalia YN, Gurny R, Möller M. Novel micelle formulations to increase cutaneous bioavailability of azole antifungals. *J Control Release* 2011;153:126-32.

Badihi A, Frušić-Zlotkin M, Soroka Y, Benhamron S, Tzur T, Nassar T, Benita S. Topical nano-encapsulated cyclosporine formulation for atopic dermatitis treatment. *Nanomedicine.* 2020;24:102140.

Barberio G, Pajno GB, Vita D, Caminiti L, Canonica GW, Passalacqua G. Does a 'reverse' atopic march exist? *Allergy.* 2008;63(12):1630-2.

Barbosa AI, Costa Lima SA, Reis S. Development of methotrexate loaded fucoidan/chitosan nanoparticles with anti-inflammatory potential and enhanced skin permeation. *Int J Biol Macromol.* 2019;124:1115-1122.

Barnes KC. An update on the genetics of atopic dermatitis: scratching the surface in 2009. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(1):16-29.

Barnetson RS, Rogers M. Childhood atopic eczema. *BMJ.* 2002;324(7350):1376-9.

Benson HA. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. *Curr Drug Deliv.* 2005;2(1):23-33.

Benson, HAE, Watkinson AC. Transdermal and Topical Drug Delivery: Principles and Practice. Hoboken, NJ, USA, Wiley, 2012.

Bernardi DS, Pereira TA, Maciel NR, Bortoloto J, Viera GS, Oliveira GC, Rocha-Filho PA. Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: in vitro and in vivo assessments. *J Nanobiotechnology.* 2011;9:44.

Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2008;358(14):1483-94.

Bieber T. Atopic dermatitis. *Ann Dermatol.* 2010;22(2):125-37.

Boer M, Duchnik E, Maleszka R, Marchlewicz M. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. *Postepy Dermatol Alergol.* 2016;33(1):1-5.

Bouwstra JA, Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS, Ponc M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Prog Lipid Res.* 2003;42(1):1-36.

Chauhan I, Yasir M, Verma M, Singh AP. Nanostructured Lipid Carriers: A Groundbreaking Approach for Transdermal Drug Delivery. *Adv Pharm Bull.* 2020;10(2):150-165.

Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, Hadgraft J, Lane ME, Moustafa M, Guy RH, Macgowan AL, Tazi-Ahnini R, Ward SJ. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2009;129(8):1892-908.

Čajkovac M. Kozmetologija. Jastrebarsko, Naklada Slap, 2005, str. 11-67.

Čepelak I, Dodig S, Filipović Grčić J. Filagrin - multifunkcijski protein. *Acta Med Croatica.* 2016;70 125-130

Daniels R, Knie U. Galenics of dermal products--vehicles, properties and drug release. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2007;5(5):367-83.

Boothe WD, Tarbox JA, Tarbox MB. Atopic Dermatitis: Pathophysiology. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1027:21-37.

Drucker AM. Atopic dermatitis: Burden of illness, quality of life, and associated complications. *Allergy Asthma Proc.* 2017;38(1):3-8.

Eichenfield LF, Tom WL, Berger TG, Krol A, Paller AS, Schwarzenberger K, Bergman JN, Chamlin SL, Cohen DE, Cooper KD, Cordoro KM, Davis DM, Feldman SR, Hanifin JM, Margolis DJ, Silverman RA, Simpson EL, Williams HC, Elmetts CA, Block J, Harrod CG, Smith Begolka W, Sidbury R. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 2. Management and treatment of atopic dermatitis with topical therapies. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(1):116-32.

Eroğlu İ., Azizoğlu E., Özyazıcı M., Nenni M., Gürer Orhan H., Özbal S., Tekmen I., Ertam İ., Ünal İ., Özer Ö. Effective topical delivery systems for corticosteroids: dermatological and histological evaluations. *Drug Deliv.* 2016;23(5):1502–1513.

Espinoza LC, Silva-Abreu M, Calpena AC, Rodríguez-Lagunas MJ, Fábrega MJ, Garduño-Ramírez ML, Clares B. Nanoemulsion strategy of pioglitazone for the treatment of skin inflammatory diseases. *Nanomedicine.* 2019;19:115-125.

Farjadian F, Ghasemi A, Gohari O, Roointan A, Karimi M, Hamblin MR. Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. *Nanomedicine (Lond).* 2019;14(1):93-126.

Fernández-García R, Lalatsa A, Statts L, Bolás-Fernández F, Ballesteros MP, Serrano DR. Transferosomes as nanocarriers for drugs across the skin: Quality by design from lab to industrial scale. *Int J Pharm.* 2020;573:118817.

Fleckman P, Brumbaugh S. Absence of the granular layer and keratohyalin define a morphologically distinct subset of individuals with ichthyosis vulgaris. *Exp Dermatol.* 2002;11(4):327-36.

Fluhr JW, Dickel H, Kuss O, Weyher I, Diepgen TL, Berardesca E. Impact of anatomical location on barrier recovery, surface pH and stratum corneum hydration after acute barrier disruption. *Br J Dermatol*. 2002;146(5):770-6.

Goindi S, Kumar G, Kaur A. Novel flexible vesicles based topical formulation of levocetirizine: in vivo evaluation using oxazolone-induced atopic dermatitis in murine model. *J Liposome Res*. 2014;24(3):249-57.

Guterres SS, Alves MP, Pohlmann AR. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. *Drug Target Insights*. 2007;2:147-57.

Gustafsson D, Sjöberg O, Foucard T. Development of allergies and asthma in infants and young children with atopic dermatitis--a prospective follow-up to 7 years of age. *Allergy*, 200;55(3), 240–245.

Hadgraft J. Skin deep. *Eur J Pharm Biopharm*. 2004;58(2):291-9.

Hafner A, Lovrić J, Lakoš GP, Pepić I. Nanotherapeutics in the EU: an overview on current state and future directions. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:1005-23.

Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol Suppl*. 1980; 92: 44–47.

Hussain Z, Katas H, Mohd Amin MC, Kumolosasi E, Buang F, Sahudin S. Self-assembled polymeric nanoparticles for percutaneous co-delivery of hydrocortisone/hydroxytyrosol: an ex vivo and in vivo study using an NC/Nga mouse model. *Int J Pharm*. 2013;444(1-2):109-19.

Hussain Z, Katas H, Mohd Amin MC, Kumolosasi E. Efficient immuno-modulation of TH1/TH2 biomarkers in 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis: nanocarrier-mediated transcutaneous co-delivery of anti-inflammatory and antioxidant drugs. *PLoS One*. 2014;9(11):e113143.

Ibaraki H, Kanazawa T, Kurano T, Oogi C, Takashima Y, Seta Y. Anti-RelA siRNA-Encapsulated Flexible Liposome with Tight Junction-Opening Peptide as a Non-invasive Topical Therapeutic for Atopic Dermatitis. *Biol Pharm Bull*. 2019;42(7):1216-1225.

Jung SH, Cho YS, Jun SS, Koo JS, Cheon HG, Shin BC. Topical application of liposomal cobalamin hydrogel for atopic dermatitis therapy. *Pharmazie*. 2011;66(6):430-5.

Kang MJ, Eum JY, Park SH, Kang MH, Park KH, Choi SE, Lee MW, Kang KH, Oh CH, Choi YW. Pep-1 peptide-conjugated elastic liposomal formulation of taxifolin glycoside for the treatment of atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Int J Pharm*. 2010;402(1-2):198-204.

Karadzovska D, Riviere JE. Assessing vehicle effects on skin absorption using artificial membrane assays. *Eur J Pharm Sci*. 2013;50(5):569-76.

Kim ST, Jang DJ, Kim JH, Park JY, Lim JS, Lee SY, Lee KM, Lim SJ, Kim CK. Topical administration of cyclosporin A in a solid lipid nanoparticle formulation. *Pharmazie*. 2009;64(8):510-4.

Kong X, Zhao Y, Quan P, Fang L. Development of a topical ointment of betamethasone dipropionate loaded nanostructured lipid carrier. *Asian J Pharm Sci*. 2016;11(2), 248–254.

Korting HC, Zienicke H, Schäfer-Korting M, Braun-Falco O. Liposome encapsulation improves efficacy of betamethasone dipropionate in atopic eczema but not in psoriasis vulgaris. *Eur J Clin Pharmacol*. 1990;39(4):349-51.

Kowalska-Oleędzka E, Czarnecka M, Baran A. Epidemiology of atopic dermatitis in Europe. *J Drug Assess*. 2019;8(1):126-128.

Kunz BIF, Ring J. Clinical features and diagnostic criteria of atopic dermatitis. Massachusetts, Blackwell Publishing, 2006, str. 227-244.

Lane ME. Skin penetration enhancers. *Int J Pharm*. 2013;447(1-2):12-21.

Lapteva M, Santer V, Mondon K, Patmanidis I, Chiriano G, Scapozza L, Gurny R, Möller M, Kalia YN. Targeted cutaneous delivery of ciclosporin A using micellar nanocarriers and the possible role of inter-cluster regions as molecular transport pathways. *J Control Release*. 2014;196:9-18.

Leonida MD, Kumar I. Nanoparticles, Nanomaterials and Nanocarriers. Bionanomaterials for Skin Regeneration. Springer International Publishing, 2016, str. 37–46.

- Li G, Fan Y, Fan C, Li X, Wang X, Li M, Liu Y. Tacrolimus-loaded ethosomes: physicochemical characterization and in vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2012;82(1):49-57.
- Lipozenčić J, Ljubojević S, Marinović Kulišić S. Atopijski dermatitis u odraslih. Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 239-246.
- Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics.* 2014;6(1):52-77.
- Löwa A, Jevtić M, Gorreja F, Hedtrich S. Alternatives to animal testing in basic and preclinical research of atopic dermatitis. *Exp Dermatol.* 2018;27(5):476-483.
- Mandawgade SD, Patravale VB. Development of SLNs from natural lipids: application to topical delivery of tretinoin. *Int J Pharm.* 2008;363(1-2):132-8.
- Martins JP, das Neves J, de la Fuente M, Celia C, Florindo H, Günday-Türeli N, Popat A, Santos JL, Sousa F, Schmid R, Wolfram J, Sarmento B, Santos HA. The solid progress of nanomedicine. *Drug Delivery and Translational Research.* 2020;10(3), 726-729
- Mezei M, Gulasekharan V. Liposomes - a selective drug delivery system for the topical route of administration. Lotion dosage form. *Life Sci.* 1980;26(18):1473-7.
- Michaels AS, Chandrasekaran SK, Shaw JE. Drug permeation through human skin: Theory and in vitro experimental measurement. *AIChE Journal.* 1975; 21(5), 985–996.
- Milcovich G, Lettieri S, Antunes FE, Medronho B, Fonseca AC, Coelho JFJ, Marizza P, Perrone F, Farra R, Dapas B, Grassi G, Grassi M, Giordani, S. Recent advances in smart biotechnology: Hydrogels and nanocarriers for tailored bioactive molecules depot. *Adv colloid interface sci.* 2017;249, 163–180.
- Murat-Sušić S. Atopijski dermatitis u djece – dijagnoza i liječenje. *Medicus.* 2007;16(1\_Dermatologija), str. 13-20. Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/23018> (Datum pristupa: 10.04.2021.)

Pandey M, Choudhury H, Gunasegaran TAP, Nathan SS, Md S, Gorain B, Tripathy M, Hussain Z. Hyaluronic acid-modified betamethasone encapsulated polymeric nanoparticles: fabrication, characterisation, in vitro release kinetics, and dermal targeting. *Drug Deliv Transl Res.* 2019;9(2):520-533..

Pepić I, Vujičić M, Lovrić J, Filipović Grčić J. Nanočestice u dermatokozmetičkim pripravcima: liposomi, mikroemulzije i polimerne micelle. *Farmaceutski glasnik.* 2012; 68. (12), 763-772.

Pustišek N, Ljubojević Hadžavdić S. Atopijski dermatitis. *Paediatr Croat.* 2019; 63 (Supl 1): 178-184

Rajan R, Jose S, Mukund VP, Vasudevan DT. Transferosomes - A vesicular transdermal delivery system for enhanced drug permeation. *J Adv Pharm Technol Res.* 2011;2(3):138-43.

Rhodes HL, Thomas P, Sporik R, Holgate ST, Cogswell JJ. A birth cohort study of subjects at risk of atopy: twenty-two-year follow-up of wheeze and atopic status. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(2):176-80..

Roberts MS, Mohammed Y, Pastore MN, Namjoshi S, Yousef S, Alinaghi A, Haridass IN, Abd E, Leite-Silva VR, Benson H, Grice JE. Topical and cutaneous delivery using nanosystems. *J Control Release.* 2017;247:86-105..

Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology.* 1993;186(1):23-31.

Shah PP, Desai PR, Channer D, Singh M. Enhanced skin permeation using polyarginine modified nanostructured lipid carriers. *J Control Release.* 2012;161(3):735-45.

Sharma R, Dua JS, Prasad DN, Hira S. Advancement in novel drug delivery system: Niosomes. *J Drug Deliv Ther.* 2019;9(3-s):995–1001.

Siddique MI, Katas H, Jamil A, Mohd Amin MCI, Ng SF, Zulfakar MH, Nadeem SM. Potential treatment of atopic dermatitis: tolerability and safety of cream containing nanoparticles loaded with hydrocortisone and hydroxytyrosol in human subjects. *Drug Deliv Transl Res.* 2019;9(2):469-481.

Simonazzi A, Cid AG, Villegas M, Romero AI, Palma SD, Bermúdez JM. Nanotechnology applications in drug controlled release. *Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems*. 2018;81–116

Spergel, J. M., & Paller, A. S. (2003). Atopic dermatitis and the atopic march. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 112(6 Suppl), S118–S127.

Spergel JM, Paller AS. Atopic dermatitis and the atopic march. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(6 Suppl):S118-27..

Su S, M Kang P. Recent Advances in Nanocarrier-Assisted Therapeutics Delivery Systems. *Pharmaceutics*. 2020;12(9):837.

Suffredini G, East JE, Levy LM. New applications of nanotechnology for neuroimaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2014;35(7):1246-53.

Vanić Ž. Liposomi kao nosači lijekova: strukturna svojstva i klasifikacija. *Farm glas*. 2012; 68, 391-400.

Wilczewska AZ, Niemirowicz K, Markiewicz KH, Car H. Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacol Rep*. 2012;64(5):1020-37.

Wollenberg A, Christen-Zäch S, Taieb A, Paul C, Thyssen JP, de Bruin-Weller M, Vestergaard C, Seneschal J, Werfel T, Cork MJ, Kunz B, Fölster-Holst R, Trzeciak M, Darsow U, Szalai Z, Deleuran M, von Kobyletzki L, Barbarot S, Heratizadeh A, Gieler U, Hijnen DJ, Weidinger S, De Raeve L, Svensson Å, Simon D, Stalder JF, Ring J; European Task Force on Atopic Dermatitis/EADV Eczema Task Force. ETFAD/EADV Eczema task force 2020 position paper on diagnosis and treatment of atopic dermatitis in adults and children. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(12):2717-2744.

Yadav HK, Almokdad AA, Shaluf SIM, Debe MS. Polymer-based nanomaterials for drug-delivery carriers. In *Nanocarriers for Drug Delivery*. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier, 2019, str. 531–556

Yilmaz E, Borchert HH. Effect of lipid-containing, positively charged nanoemulsions on skin hydration, elasticity and erythema--an in vivo study. *Int J Pharm*. 2006;307(2):232-8.



Yu K, Wang Y, Wan T, Zhai Y, Cao S, Ruan W, Wu C, Xu Y. Tacrolimus nanoparticles based on chitosan combined with nicotinamide: enhancing percutaneous delivery and treatment efficacy for atopic dermatitis and reducing dose. *Int J Nanomedicine*. 2017;13:129-142.

Yuki T, Tobiishi M, Kusaka-Kikushima A, Ota Y, Tokura Y. Impaired Tight Junctions in Atopic Dermatitis Skin and in a Skin-Equivalent Model Treated with Interleukin-17. *PLoS One*. 2016;11(9):e0161759.

## 7. SAŽETAK

Atopijski dermatitis (AD) predstavlja jednu od najčešćih kroničnih upalnih bolesti kože. Uobičajena terapija blagih i srednje teških oblika AD-a uglavnom se zasniva na topikalnim kortikosteroidima i inhibitorima kalcineurina čija učestala primjena sa sobom povlači i brojne lokalne nuspojave, što se može izbjeći uklapanjem lijekova u odgovarajuće nanosustave. Upravo zato se unazad dvadesetak godina nanosustavi intenzivno proučavaju kao potencijalno bolji načini formulacije lijekova za topikalnu primjenu. Njihova superiornost proizlazi iz činjenice da znatno učinkovitije dostavljaju lijekove na njihovo ciljno mjesto djelovanja, čime se smanjuje količina lijeka u formulaciji potrebna za ispoljavanje terapijskog učinka, a samim time i vjerojatnost nuspojava. Uslijed specifičnog načina uklapanja lijekova unutar nanosustava, moguće je prilagoditi oslobađanje lijekova te zaštititi nestabilne lijekove od razgradnje, poboljšati njihove karakteristike i postići bolju penetraciju i permeaciju u kožu.

Ovaj rad donosi pregled istraživanja primjene nanosustava u liječenju AD-a. Ukratko je opisana specifičnost građe kože u pacijenata s AD-om te mehanizmi penetracije lijekova i nanosustava kako bi se dodatno pojasnio kontekst primjene nanosustava u topikalnoj terapiji AD-a.

## **SUMMARY**

Atopic dermatitis (AD) is one of the most common chronic skin diseases. Conventional therapy for mild to moderate forms of AD is mainly based on topical corticosteroids and calcineurin inhibitors whose frequent use entails a number of local side effects, which can be overcome by their encapsulation in various nanocarriers (nanosystems). Therefore, nanosystems have been intensively studied for the past twenty years as a potentially better way of formulating drugs for topical application. Their superiority stems from the fact that they can deliver drugs much more efficiently to their target site of action, thus reducing the amount of drug in the formulation required to exert desired therapeutic effect, along with the reduced incidence of side effects. Moreover, it is possible to modify drug release, protect unstable drugs from degradation and improve their penetration in the skin.

This study provides an overview of drug delivery nanosystems for the topical AD treatment. The structure of the skin is briefly described, as well as its differences in patients with AD, along with the interactions of the nanosystems and skin to clarify the effect of nanosystems in topical AD therapy.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmaceutsku tehnologiju  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### NANOTEHNOLOGIJA U TERAPIJI ATOPIJSKOG DERMATITISA

Lana Blažević

#### SAŽETAK

Atopijski dermatitis (AD) predstavlja jednu od najčešćih kroničnih upalnih bolesti kože. Uobičajena terapija blagih i srednje teških oblika AD-a uglavnom se zasniva na topikalnim kortikosteroidima i inhibitorima kalcineurina čija učestala primjena sa sobom povlači i brojne lokalne nuspojave, što se može izbjeći uklapanjem lijekova u odgovarajuće nanosustave. Upravo zato se unazad dvadesetak godina nanosustavi intenzivno proučavaju kao potencijalno bolji načini formulacije lijekova za topikalnu primjenu. Njihova superiornost proizlazi iz činjenice da znatno učinkovitije dostavljaju lijekove na njihovo ciljno mjesto djelovanja, čime se smanjuje količina lijeka u formulaciji potrebna za ispoljavanje terapijskog učinka, a samim time i vjerojatnost nuspojava. Uslijed specifičnog načina uklapanja lijekova unutar nanosustava, moguće je prilagoditi oslobađanje lijekova te zaštititi nestabilne lijekove od razgradnje, poboljšati njihove karakteristike i postići bolju penetraciju i permeaciju u kožu. Ovaj rad donosi pregled istraživanja primjene nanosustava u liječenju AD-a. Ukratko je opisana specifičnost građe kože u pacijenata s AD-om te mehanizmi penetracije lijekova i nanosustava kako bi se dodatno pojasnio kontekst primjene nanosustava u topikalnoj terapiji AD-a.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 62 stranice, 12 grafičkih prikaza, 1 tablicu i 84 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: nanosustavi, atopijski dermatitis, topikalna primjena lijekova

Mentor: **Dr. sc. Željka Vanić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Željka Vanić**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Mario Jug**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo**, redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: srpanj 2021.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmaceutical Technology  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### NANOSYSTEMS IN THERAPY OF ATOPIC DERMATITIS

**Lana Blažević**

#### SUMMARY

Atopic dermatitis (AD) is one of the most common chronic skin diseases. Conventional therapy for mild to moderate forms of AD is mainly based on topical corticosteroids and calcineurin inhibitors whose frequent use entails a number of local side effects, which can be overcome by their encapsulation in various nanocarriers (nanosystems). Therefore, nanosystems have been intensively studied for the past twenty years as a potentially better way of formulating drugs for topical application. Their superiority stems from the fact that they can deliver drugs much more efficiently to their target site of action, thus reducing the amount of drug in the formulation required to exert desired therapeutic effect, along with the reduced incidence of side effects. Moreover, it is possible to modify drug release, protect unstable drugs from degradation and improve their penetration in the skin.

This study provides an overview of drug delivery nanosystems for the topical AD treatment. The structure of the skin is briefly described, as well as its differences in patients with AD, along with the interactions of the nanosystems and skin to clarify the effect of nanosystems in topical AD therapy.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 62 pages, 12 figures, 1 tables and 84 references. Original is in Croatian language.

Keywords: nanosystems, atopic dermatitis, topical drug formulations

Mentor: **Željka Vanić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Željka Vanić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Mario Jug, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Dubravka Vitali Čepo, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2021.