

ΒΡΑΧΕΙΑ ΟΜΙΛΙΑ

**ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΕΚΡΙΖΩΣΗΣ ΤΟΥ ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟΥ ΤΟΥ
ΠΥΛΩΡΟΥ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

Μελλοντική θεραπεία εκρίζωσης του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού μέσω της νανοτεχνολογίας

Μ. Γαζούλη

Επίκουρη Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Η λοίμωξη από Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*H. pylori*) είναι η πιο διαδεδομένη λοίμωξη παγκοσμίως και αφορά περίπου στο 50% του πληθυσμού της γης¹. Το *H. pylori* θεωρείται παράγοντας κινδύνου για διάφορα νοσήματα του πεπτικού όπως γαστρίτιδα, γαστρικό και δωδεκαδακτυλικό έλκος, MALT λέμφωμα και γαστρικό καρκίνο². Το θεραπευτικό πλάνο που έχει υιοθετηθεί σήμερα ως πρώτης γραμμής επιλογή περιλαμβάνει έναν συνδυασμό αναστολών της αντλίας πρωτονίων με κλαρινθρομυκίνης και αμοξικιλίνη ή μετρονιδαζόλης/τινιδαζόλης, σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές^{3,4}. Ο κύριος περιορισμός της τρέχουσας θεραπείας είναι η έλλειψη συμμόρφωσης στη θεραπεία, λόγω της επίπτωσης των παρενεργειών, της ενόχλησης που προκύπτει από τις πολλαπλές δόσεις των φαρμάκων και της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.^{5,6} Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, έχουν προταθεί νέες αποτελεσματικές θεραπείες: όπως τα προβιοτικά, φυτοϊατρική, γαστροσυγκρατικά (gastroretentive) συστήματα, όπως τα πλωτά συστήματα παράδοσης φαρμάκων (floating drug delivery), και μια προληπτική προσέγγιση, η προσπάθεια για την ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού εμβολίου.⁷⁻¹⁰ Οι πιο ελπιδοφόρες θεραπείες που εμφανίστηκαν πρόσφατα βασίζονται στη χρήση των μικρο- ή νανοσωματιδίων για άμεση επαφή με το *H. pylori*, και παράδοση φαρμάκου ή με βλενοπροσδετικές ιδιότητες. Τα νανοσωματίδια (NPs), έχουν μοναδικές φυσικές και χημικές ιδιότητες ως αποτέλεσμα του μικρού τους μεγέθους, όπως ο υψηλός λόγος επιφάνειας προς όγκο και η αντιδραστικότητά τους.¹¹ Κάθε NP μπορεί να χειριστεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να επιτευχθεί το κατάλληλο μέγεθος, το σχήμα, τα χημικά χαρακτηριστικά καθώς επίσης και να συνδεθεί με ειδικούς συνδέτες ενισχυτές των μοριακών αλληλεπιδράσεων.¹¹ Για παράδειγμα, θετικά φορτισμένα σωματίδια μπορούν να έλκονται από το γαστρικό βλεννογόνο, δεδομένου ότι είναι αρνητικά φορτισμένος λόγω των πολλών επιφανειακών ομάδων, δηλ. σιαλικυλικό οξύ, καρβοξυλικές ή θειϊκές ομάδες.¹² Αξίζει να σημειωθεί ότι το *H. pylori* είναι επίσης αρνητικά φορτισμένο, πράγμα το οποίο δύναται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση του με τα NPs. Αντιμέτωποι με το σοβαρό αναδυόμενο πρόβλημα της βακτηριακής ανοχής στα αντιβιοτικά, πολλά αντιβιοτικά συζευγμένα με NPs έχουν αποδείξει τη χρησιμότητα και την αποτελεσματικότητά τους τόσο *in vitro* όσο και σε ζωικά μοντέλα.¹³ Τα NPs επιτρέπουν επιπλέον μια σταθερή θεραπεία, δεδομένου ότι μπορούν να επιτύχουν υψηλότερο χρόνο κατακράτησης στο ανθρώπινο σώμα σε σύγκριση με τα μικρά μόρια των αντιβιοτικών.¹⁴ Προσεγγίζοντας την ιδανική «μαγική σφαίρα», είναι δυνατόν να χρησιμοποιήσουμε αυτή την τεχνολογία για να στοχεύσουμε σχεδόν αποκλειστικά τα βακτήρια, επιτρέποντας τη χρήση υψηλότερων δόσεων χωρίς την ταυτόχρονη αύξηση ανεπιθύμητων ενεργειών.¹⁵ Μερικοί συγγραφείς υποστηρίζουν ότι το μέγεθος παίζει έναν κεντρικό ρόλο στη διάχυση των NPs εντός του γαστρικού βλεννογόνου μέχρι να φτάσουν στο *H. Pylori*, καθώς NPs με μέγεθος πάνω από 200 nm εμφανίζουν μειωμένη διάχυση.^{16,17} Επιπλέον, ορισμένοι συγγραφείς πιστεύουν ότι μεγέθη κάτω του μικρομέτρου αποτελούν το κλειδί για την βακτηριοστατική δράση των NPs, καθώς η ικανότητά τους να διεισδύουν στην κατεστραμμένη βακτηριακή μεμβράνη

εξαρτάται από το μέγεθος τους.¹⁸ Επιπλέον, υποστηρίζεται ότι τα NPs, είναι επίσης σε θέση να περάσουν μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων και λόγω αυτού να παρουσιάσουν χαμηλότερη τοξικότητα και αλληλεπίδραση με το ανοσοποιητικό σύστημα.¹⁹ Σήμερα, διαφορετικά σωματίδια μελετώνται ώστε να αυξηθεί το ποσοστό εκκρίωσης της λοίμωξης από *H. pylori*. Τα νέα αυτά συστήματα θα είναι το επίκεντρο αυτής της ανασκόπησης, κυρίως τα λιποσώματα, τα πολυμερή, οι πρωτεΐνες και οι πολυσακχαρίτες.

A. Λιποσώματα

Τα λιποσώματα είναι σφαιρικά κυστίδια που αποτελούνται από ένα διπλό ή πολλαπλό στρώμα αμφιφιλικών λιπιδίων και ένα υδατικό πυρήνα. Λιποσώματα έχουν χρησιμοποιηθεί για την εγκύστωση διαφόρων ενώσεων, όπως ενζύμων, πρωτεϊνών και φαρμάκων με διαφορετικούς στόχους. Τα λιποσώματα είναι επίσης τα πιο μελετημένα NPs για την παράδοση αντιμικροβιακών φαρμάκων.¹⁴ Το σημαντικότερο πλεονέκτημα είναι η χρήση βιοσυμβατών και βιοαποικοδομήσιμων συστατικών, που επιτρέπει τη χρήση των λιποσωμάτων χωρίς σημαντική τοξικότητα. Επίσης, είναι ευέλικτοι φορείς φαρμάκων καθώς οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες μπορούν εύκολα να μετατραπούν αλλάζοντας τα φωσφολιπίδια, την αναλογία και το μέγεθος τους, το φορτίο τους, ακόμη και την ευαισθησία τους σε εξωτερικά ερεθίσματα, όπως το pH και η θερμοκρασία. Η ευελιξία τους ισχύει ακόμη και για φάρμακα που μπορούν να ενθυλακώνονται, επιτρέποντας την ενθυλάκωση αμφοτέρων υδρόφιλων και υδρόφοβων φαρμάκων και την συν-ενθυλάκωση δύο ή περισσότερων φαρμάκων. Επιπλέον, η ομοιότητα τους με την κυτταρική μεμβράνη επιτρέπει την σύντηξη με μικρόβια μέσω ενδοκυττάρωσης.¹⁴ Στην πραγματικότητα, έχει δείχθει ότι η πιθανότητα πρόκλησης αντίστασης φαρμάκου είναι μικρότερη όταν η βάση του αντιβακτηριακού μηχανισμού είναι μια σύντηξη μεταξύ του λιποσώματος και των βακτηρίων.¹⁹ Στην ειδική περίπτωση της λοίμωξης από *H. pylori*, τα φωσφολιπίδια μπορούν επιπλέον να δημιουργήσουν ένα υδρόφοβο στρώμα ικανό να αποτρέψει την προσκόλληση των βακτηρίων στον βλεννογόνο και να παρέχει τα λιπαρά οξέα για την επιδιόρθωση του γαστρικού βλεννογόνου.²⁰ Περαιτέρω, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη (PE) για επιλεκτική δέσμευση στους υποδοχείς που υπάρχουν στο βακτήριο, επιτρέποντας την ενεργό στόχευση και εμποδίζοντας την προσκόλληση των βακτηρίων στο γαστρικό βλεννογόνο.

A1. Απλά λιποσώματα

Το 2012, ο Obonogo και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν ένα νέο αντιβακτηριακό βασισμένο σε απλό λιπόσωμα NP, χρησιμοποιώντας λινολενικό οξύ ως αντιβακτηριακό φάρμακο.¹⁹ Οι αμφιφιλικές ιδιότητες του λινολενικού οξέος (LLA) επέτρεψε την ενσωμάτωση του εντός της φωσφολιπιδικής διπλοστοιβάδας ενός λιποσώματος αποτελούμενου από υδρογονωμένη Ι-α-φωσφατιδυλοχολίνη, χοληστερίνη και LLA.¹⁹ Σε αντίθεση με ό,τι παρατηρήθηκε στη συμβατική θεραπεία με αμοξικιλίνη, το νέο NP σκότωσε τόσο τις σπειροειδείς όσο και τις κοκκοειδείς μορφές του βακτηρίου.¹⁹ Το NP ήταν επίσης αποτελεσματικό στη θανάτωση όλων των στελεχών του *H. pylori*, ακόμη και ενός στελέχους ανθεκτικού στελέχους στη μετρονιδαζόλη.¹⁹ Το βακτήριο δεν αποκτούσε ανοχή φαρμάκου όταν αξιολογήθηκαν υποβακτηριοκτόνες συγκεντρώσεις του NP, σε αντίθεση με εκείνα που παρατηρούνται με μετρονιδαζόλη και ελεύθερο LLA.¹⁹

Τα απλά λιποσώματα έχουν επίσης μελετηθεί ως εναλλακτική λύση για να ξεπεραστούν οι περιορισμοί της ανάπτυξης επιτυχών εμβολίων. Τα λιποσώματα είναι ένα ελκυστικό σύστημα χορήγησης επειδή είναι σε θέση να προστατεύσει το φορτίο από το εχθρικό γαστρικό περιβάλλον καθιστώντας δυνατή τη χορήγηση από το στόμα, να προωθήσει μια παρατεταμένη απελευθέρωση και να προκαλέσει ανοσολογικές απαντήσεις.

A2. Διπλά λιποσώματα

Τα απλά λιποσώματα έχουν διάφορα μειονεκτήματα, όπως χαμηλή αποδοτικότητα εγκλεισμού, αστάθεια και πρόσκαιρη απελευθέρωση λόγω της πιθανότητας θραύσης της διπλοστοιβάδας των φωσφολιπιδίων, για αυτό το λόγω μελετώνται τα διπλά λιποσώματα για τη θεραπεία του *H. pylori*.²¹ Αποτελούνται από μικρότερα λιποσώματα μέσα σε μια λιπιδική διπλοστοιβάδα, τα οποία προστατεύουν τα εσωτερικά λιποσώματα έναντι των εξωτερικών κινδύνων.²¹ Τα διπλά λιποσώματα έχουν μεγαλύτερη ικανότητα φόρτωσης του φαρμάκου, υψηλότερη σταθερότητα και μπορούν να αποτρέψουν την χημική μεταβολή σε ελεύθερα φάρμακα, με αποτέλεσμα να θεωρούνται ως ένα αποτελεσματικό σύστημα διανομής.²¹ Ωστόσο, η αστάθεια που προκύπτει από την αποθήκευση σε υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να είναι πιο έντονη στα διπλά λιποσώματα λόγω του μεγάλου μεγέθους τους.

B. Πολυμερή σωματίδια

Τα πολυμερή σωματίδια έχουν μελετηθεί εκτενώς λόγω της μηχανικής τους σταθερότητας και του φορτίου τους. Επιπλέον, είναι δυνατόν να τροποποιηθούν τα χαρακτηριστικά βιοκατανομής τους, οδηγώντας στην αλλαγή των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων, όπως είναι το μέγεθος. Πράγματι, η επιφάνεια των πολυμερών σωματιδίων μπορεί να εξατομικευθεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να αυξηθούν οι αλληλεπιδράσεις με το κύτταρο-στόχο καθώς και με το ανοσοποιητικό σύστημα.²² Διάφορα πολυμερή έχουν επίσης βλεννοσυγκολλητικές ιδιότητες, οι οποίες είναι κατάλληλες για την ενίσχυση του χρόνου παραμονής στο στομάχι όπως, επίσης, και για να ξεπεραστεί η χαμηλότερη απορρόφηση πολλών φαρμάκων.²³ Πολυμερή σωματίδια μπορούν επίσης να προστατεύουν τα φάρμακα από πρωτεολυτικά ένζυμα, αυξάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα τους από το στόμα]. Επιπλέον, τα πολυμερή συνήθως παρουσιάζουν διάφορους μηχανισμούς για την καταπολέμηση των μικροβίων, ως εκ τούτου, είναι απίθανο ότι το *H. pylori* θα έχει αναπτύξει αντίσταση εναντίον τους.¹⁵ Ως εκ τούτου, τα πολυμερή έχουν αποτελέσει αντικείμενο μελέτης για εφαρμογή στην εκρίζωση του *H. pylori*.

Γ. Υβριδικά συστήματα με λιποσώματα και πολυμερή σωματίδια

Το κύριο πλεονέκτημα που παρουσιάζουν τα υβρίδια που αποτελούνται από ένα πολυμερικό πυρήνα που περιβάλλεται από ένα φωσφολιπιδικό διπλό στρώμα, είναι η δυνατότητα χειρισμού της φωσφολιπιδικής διπλοστοιβάδας, καθιστώντας δυνατή τη χρήση τεχνικών για την ενεργητική και παθητική στόχευση με παρόμοιο τρόπο όπως αυτός που επιτυγχάνεται με τα λιποσώματα. Οι τεχνικές αυτές μπορεί να περιλαμβάνουν μία ευαίσθητη σε κάποιο ερέθισμα απελευθέρωση του φαρμάκου και μία μεσολαβούμενη από υποδοχέα ή αντίσωμα στόχευση του φαρμάκου.

Ο Jain και συν. (2009), παρατήρησαν ότι η στρατηγική για την ενίσχυση της σταθερότητας των λιποσωμάτων μπορεί επίσης να επιτευχθεί μέσω της επικάλυψης των λιποσωμάτων με εναλλασσόμενες στρώσεις από πολυκατιόντα και πολυανιόντα (πολυηλεκτρολύτες).²⁰ Χάρη στο θετικό φορτίο του εξωτερικού στρώματος του NP, είναι δυνατόν να αυξηθεί η προσκόλληση στη βλεννογόνο επιφάνεια η οποία είναι αρνητικά φορτισμένη. Ως εκ τούτου, θετικώς φορτισμένα λιποσώματα που αποτελούνται από φωσφατιδυλοχολίνη αυγού, χοληστερόλη και στεαρυλαμίνη επικαλύφθηκαν με πολυ (ακρυλικό οξύ) και πολυ (υδροχλωρική αλλυλαμίνη). Χρησιμοποίησαν αυτά τα νανοσωματίδια για εγκλεισμό αμοξικιλίνης και μετρονιδαζόλης. In vitro μελέτες απελευθέρωσης φαρμάκου έδειξαν μία ελεγχόμενη και παρατεταμένη απελευθέρωση σε προσομοιωμένο γαστρικό υγρό. Αυτή η σταθερή αποδέσμευση προκάλεσε ρυθμούς αναστολής της ανάπτυξης της τάξης του 99%, μικρότερους από εκείνους που λαμβάνονται με τα φάρμακα χωρίς οποιαδήποτε τυποποίηση, λόγω της άμεσης επαφής μεταξύ των βακτηρίων και των απλών φαρμάκων ταυτόχρονα. Τα συστατικά του NP προκάλεσαν επίσης αναστολή της ανάπτυξης σε ποσοστό

περίπου 94%, αποκαλύπτοντας αντιβακτηριακές ιδιότητες. Σε μελέτες συγκόλλησης και προσκόλλησης αποκαλύφθηκαν τόσο η ικανότητα του NP να συνδέεται με τα βακτήρια όσο και οι βλεννοσυγκολλητικές του ιδιότητες. Οι *in vivo* μελέτες βακτηριακής κάθαρσης αποκάλυψαν ότι τα NP είχαν υψηλότερη αποτελεσματικότητα από ό,τι τα ελεύθερα αντιβιοτικά. Αυτή η κάθαρση είναι πιθανώς μια συνέπεια της μειωμένης σύνδεσης του *H. pylori* στο βλεννογόνο. Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα, τα κατιονικά πολυμερή μπορεί να είναι τοξικά και για το λόγο αυτό συμπληρωματικές μελέτες είναι απαραίτητες. Μια άλλη στρατηγική για την αύξηση της σταθερότητας των λιποσωμάτων αναπτύχθηκε από τους Thamrhiwatana και συν.²⁷ χρησιμοποιώντας φορτισμένα νανοσωματίδια για να προκαλέσουν στερική άπωση και μείωση της επιφανειακής τάσης. Οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν μικρά νανοσωματίδια χρυσού τροποποιημένα με χιτοζάνη τα οποία είναι πρωτονιωμένα σε όξινο pH και αποπρωτονιώνονται σε ουδέτερο pH. Ως εκ τούτου, στο γαστρικό pH το λιπόσωμα, που αποτελείται από φωσφατιδυλοχολίνη αυγού και 1,2-διολεοϋλ-sn-γλυκερόλη-3-φωσφορικό (άλας νατρίου), θα σταθεροποιείται από την σύνδεση με νανοσωματίδια χρυσού τροποποιημένα με χιτοζάνη (AuChi). Τα συντιθέμενα νανοσωματίδια είχαν διάμετρο $95,2 \pm 1,3$ nm, δείκτη πολυδιασποράς $0,11 \pm 0,01$ και ζ-δυναμικό $+57,4 \pm 0,7$ mV. Σε ουδέτερο pH, τα AuChi θα αποκολληθούν από τα λιποσώματα, επιτρέποντας την αποσταθεροποίηση της διπλοστοιβάδας των φωσφολιπιδίων και συνεπώς την απελευθέρωση του φαρμάκου. Επίσης, σε pH 7.4 παρατηρήθηκε μία αυξημένη συγχώνευση μεταξύ λιποσωμάτων και βακτηριακών μεμβρανών του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού καθώς επίσης και υψηλότερα ποσοστά αποδέσμευσης της δοξυκυκλίνης. *In vitro* μελέτες έδειξαν την αποτελεσματικότητα των NP στην πλήρη θανάτωση των βακτηρίων.

Γ. Πρωτεΐνες

Υπάρχουν αρκετά πλεονεκτήματα στη χρήση των πρωτεϊνών ως φορείς φαρμάκων, με κυριότερα τη βιοαποικοδομησιμότητα τους, τις μη-αντιγονικές τους ιδιότητες, τη θρεπτική τους αξία καθώς και την ύπαρξη πλούσιων και ανανεώσιμων πηγών τους. Η γλιαδίνη συνίσταται σε μια ομάδα πρωτεϊνών που προέρχονται από τη γλουτένη. Νανοσωματίδια γλιαδίνης έχουν μελετηθεί ως πιθανοί φορείς φαρμάκων για την εξάλειψη του *H. pylori* λόγω των βλεννοσυγκολλητικών τους ιδιοτήτων και του τροπισμού τους για τις ανώτερες γαστρεντερικές περιοχές.²⁴

Δ. Πολυσακχαρίτες

Πολυμερή μόρια υδατανθράκων (πολυσακχαρίτες), όπως η χιτοζάνη και το αλγινικό, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί εναντίον του *H. pylori*. Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί πάνω στα προαναφερθέντα μόρια προκειμένου να ενθυλακώσουν αντιβιοτικά. Για παράδειγμα, ο Shah και οι συνεργάτες του (1999) ανέπτυξαν μικροσφαίρες χιτοζάνης προκειμένου να παραδώσουν αμοξικιλίνη και μετρονιδαζόλη στο σημείο της μόλυνσης.²⁵ Ωστόσο, δεν επιτεύχθηκε παρατεταμένη απελευθέρωση σε προσομοιωμένο γαστρικό υγρό καθώς οι μικροσφαίρες χιτοζάνης ήταν εξαιρετικά πορώδεις, πράγμα το οποίο οδήγησε στην απελευθέρωση της αμοξικιλίνης και μετρονιδαζόλης μέσα σε 2h. Η χιτοζάνη έχει χρησιμοποιηθεί και για ένα διαφορετικό σκοπό. Η βακτηριοκτόνος δράση της και η ιδιότητα βλεννοπρόσφυσης μπορεί να επιτρέψει τη χρήση των σωματιδίων της χιτοζάνης στην πρόσδεση, τη θανάτωση και την αφαίρεση του *H. pylori* από το στομάχι. Οι μελέτες έδειξαν την αποτελεσματικότητα της μικροσφαίρας στη μείωση της προσκόλλησης ανάμεσα στα βακτήρια και τα γαστρικά κύτταρα σε 50-76% και 47-56%, όταν αυτή προστίθεται μετά και πριν από την προ-επίσση *H. pylori*-γαστρικού κυττάρου, αντίστοιχα.²⁶ Παρά το ότι προκάλεσαν μία μείωση 20% της μεταβολικής δραστηριότητας των κυττάρων, οι μικροσφαίρες αυτές δεν θεωρήθηκαν κυτταροτοξικές σύμφωνα με το διεθνές πρότυπο ISO 10993-5. Παρ' όλα αυτά, απαιτούνται επιπλέον μελέτες για να εξακριβωθεί εάν οι

επαναλαμβανόμενες θεραπείες είναι επαρκείς για να ολοκληρωθεί η εκρίζωση του *H. Pylori*.

Εν κατακλείδι, η χρησιμότητα των νανοσωματιδίων στην καταπολέμηση της λοίμωξης από *H. pylori* είναι αναμφισβήτητη. Ωστόσο, είναι απαραίτητες συμπληρωματικές μελέτες για την αξιολόγηση την αποτελεσματικότητας και την τοξικότητα *in vivo*.

Βιβλιογραφία

1. Bruce MG, Maaroos HI. Epidemiology of Helicobacter pylori Infection. *Helicobacter* 2008;13(Suppl1):1-6
2. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420(6917):860-7.
3. Zullo A, Hassan C, Ridola L, de Francesco V, Vaira D. Standard triple and sequential therapies for Helicobacter pylori eradication: an update, *Eur J Intern Med* 2012;24:16–19.
4. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61:646–664
5. Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Ojetti V, Cammarota G, Anti M, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:163–169.
6. Selgrad M, Malfertheiner P. New strategies for Helicobacter pylori eradication. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8: 593–597
7. Patel A, Shah N, Prajapati JB. Clinical appliance of probiotics in the treatment of Helicobacter pylori infection — a brief review. *J Microbiol Immunol Infect* 2013; 1–9
8. Vitor J, Vale FF. Alternative therapies for Helicobacter pylori: probiotics and phytomedicine. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2011; 63:153–16
9. Bardonnnet P.L., Faivre V., Pugh W.J., Piffaretti J.C, Falson F. Gastroretentive dosage forms: overview and special case of Helicobacter pylori. *J Control Release* 2006; 111: 1–18
10. Selgrad M, Malfertheiner P. New strategies for Helicobacter pylori eradication *Curr. Opin. Pharmacol.* 2008; 8:593–597
11. Blecher K, Nasir A, Friedman A. The growing role of nanotechnology in combating infectious disease, *Virulence* 2011; 2:395–401
12. Arora S, Gupta S, Narang RK, Budhiraja RD. Amoxicillin loaded chitosan-alginate polyelectrolyte complex nanoparticles as mucopenetrating delivery system for *H. pylori*. *Sci Pharm* 2011; 79:673–694
13. Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, et al. Antibacterial properties of nanoparticles, *Trends Biotechnol* 2012; 30: 499–511
14. Jung A, Kwon Y. “Nanoantibiotics”: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release* 2011; 156: 128–145

15. Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65: 1803–1815
16. Hassani S., Pellequer Y., Lamprecht A., Selective adhesion of nanoparticles to inflamed tissue in gastric ulcers, *Pharm.Res.*2009; 26:1149–1154
17. Norris DA, Puri N, Sinko PJ. The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates, *Adv.Drug Deliv.Rev.*34 (1998) 135–154
18. Luo D, Guo J, Wang F, et al. Preparation and evaluation of anti-Helicobacter pylori efficacy of chitosan nanoparticles in vitro and in vivo. *J.Biomater.Sci.*2009; 20: 1587–1596
19. Obonyo M, Zhang L. Thamphiwatana S., Pornpattananangkul D., Fu V., Zhang L. Antibacterial activities of liposomal linolenic acids against antibiotic-resistant Helicobacter pylori. *Mol Pharm* 2012; 9: 2677–2685
20. Jain P, Jain S, Prasad KN, Jain SK, Vyas SP. Polyelectrolyte coated multilayered liposomes (nanocapsules) for the treatment of Helicobacter pylori infection. *Mol Pharm* 2009; 6: 563–603
21. Singh DY, Prasad NK. Double liposomes mediated dual drug targeting for treatment of Helicobacter pylori infections. *Pharmazie* 2011; 66: 268–273
22. Akiyama Y, Nagahara N, Kashiwara T, Hirai S, Toguchi H. In vitro and in vivo evaluation of mucoadhesive microspheres prepared for the gastrointestinal tract using polyglycerol esters of fatty acids and a poly(acrylic acid) derivative. *Pharm Res* 1995; 12:397–405
23. Fontana G, Licciardi M, Mansueto S, Schillaci D. Giammona G., Amoxicillin-loaded polyethylcyanoacrylate nanoparticles: influence of PEG coating on the particle size, drug release rate and phagocytic uptake, *Biomaterials* 2001; 22:2857–2865.
24. Ramteke S, Jain NK. Clarithromycin- and omeprazole-containing gliadin nanoparticles for the treatment of Helicobacter pylori. *J Drug Target* 2008; 16: 65–72
25. Shah S, Qaqish R, Patel V, Amiji M. Evaluation of the factors influencing stomach-specific delivery of antibacterial agents for Helicobacter pylori infection. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51:667–672.
26. Goncalves IC, Magalhaes A, Fernandes M, Rodrigues IV, Reis CA, Martins MC. Bacterial-binding chitosan microspheres for gastric infection treatment and prevention. *Acta Biomater* 2013; 9:9370–9378.
27. Thamphiwatana S, Fu V, Zhu J, Lu D, Gao W, Zhang L. Nanoparticle-stabilized liposomes for pH-responsive gastric drug delivery. *Langmuir* 2013; 9:12228–12233.