

# Uloga nanotehnologije u liječenju i dijagnostici zloćudnih tumora

---

**Gudelj, Ema**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:546316>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-08**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Ema Gudelj**

**Uloga nanotehnologije u liječenju i dijagnostici  
zloćudnih tumora**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu KBC „Sestre milosrdnice“ Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Nikole Đakovića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu

- 0D - nulta dimenzionalnost (engl. *zero-dimensional*)
- 1D - jednodimenzionalno (engl. *one-dimensional*)
- 2D - dvodimenzionalno (engl. *two-dimensional*)
- 3D - trodimenzionalno (engl. *three-dimensional*)
- CT - kompjuterizirana tomografija (engl. *computerized tomography*)
- EPR - povećana propusnost i zadržavanje (engl. *enhanced permeability and retention*)
- FB50 - monoklonsko protutijelo koje prepoznaje aspartil/asparginil  $\beta$  hidroksilazu (engl. *monoclonal antibody which recognizes human aspartyl/asparaginyl- $\beta$ -hydroxylase*)
- FDA - Agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*)
- LED - svjetleća dioda (engl. *light-emitting diode*)
- MEMS - mikroelektromehanički sustavi (engl. *microelectromechanical systems*)
- miRNA - mikroRNK (engl. *microRNA*)
- MR - magnetna rezonanca (engl. *magnetic resonance*)
- NO - dušikov oksid (engl. *nitric oxide*)

- OCT - optička koherentna tomografija (engl. *optical coherence tomography*)
- PEG - polietilen glikol (engl. *polyethylene glycol*)
- PET- CT - pozitronska emisijska tomografija i kompjuterizirana tomografija (engl. *positron emission tomography and computerized tomography*)
- SPIO - superparamagnetski željezov oksid (engl. *superparamagnetic iron oxide*)
- UM-A9 - integrin  $\beta$  4 protutijelo (engl. *integrin  $\beta$  4 antibody*)
- VEGF - vaskularni endotelni faktor rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*)

## Sadržaj

1.	Uvod.....	1
2.	Nanotehnologija u medicini.....	2
3.	Svojstva nano-čestica .....	3
3.1	Svojstva nano-čestica u biološkim sustavima .....	6
4.	Nanotehnologija i zloćudni tumori.....	9
5.	Nanotehnologija u dijagnostici .....	11
5.1	Molekularna dijagnostika .....	11
5.2	Radiografija .....	11
5.3	Kompjuterizirana tomografija.....	12
5.4	Magnetna rezonanca.....	12
5.4.1	Resovist®.....	13
6.	Nanotehnologija u terapiji .....	15
6.1	Isporuka protutumorskih lijekova pomoću nano-čestica.....	15
6.1.1	Pasivno ciljanje .....	15
6.1.1.1	Abraxane® i DaunoXome® .....	16
6.1.2	Aktivno ciljanje .....	16
6.2	Fototermalna i magnetotermalna terapija.....	17
6.3	Genska terapija .....	18
7.	Zaključak.....	20
8.	Zahvale .....	21

9.	Životopis.....	22
10.	Literatura.....	23

## I. Sažetak

### Uloga nanotehnologije u liječenju i dijagnostici zloćudnih tumora

Ema Gudelj

Unatoč napretku medicine zloćudni tumori su i dalje jedan od vodećih zdravstvenih problema suvremenog doba. Primjena dosadašnjih modaliteta liječenja zloćudnih tumora i dalje ne polučuje željene ishode u velikom broju slučajeva. Razvojem znanosti i otkrićem novih tehnologija poput nanotehnologije otvaraju se nove mogućnosti u terapiji tumora. Nanotehnologija je znanost čije se osnove zasnivaju na činjenici da čestice u nano-dimenzijama podliježu zakonima kvantne mehanike te pokazuju drugačija svojstva za razliku od čestica na makroskali. Zahvaljujući specifičnom ponašanju istih, one dobivaju potencijalno mjesto u dijagnostici i terapiji zloćudnih tumora, odnosno pokazuju obećavajuće mogućnosti u molekularnoj dijagnostici, kao kontrastna sredstva u slikovnoj dijagnostici, zatim u isporuci protutumorskih lijekova na ciljna mjesta u organizmu te u fototermalnoj, magnetotermalnoj i genskoj terapiji. S obzirom da je nanotehnologija relativno mlado područje u medicini, mogućnosti primjene nano-čestica u navedenoj disciplini i njihov utjecaj na biološke sustave nije dovoljno istražen. Osim poznavanja osnova nano-čestica bitno je poznavati i njihovo ponašanje u okviru biološkog sustava kako bi se mogle primijeniti u svrhe dijagnostike i terapije u ljudi. Cilj ovog rada je dobiti kritički uvid u nanotehnologiju putem osnova nanotehnologije, njezine raznolike uporabe u onkologiji, prednosti nanotehnologije te potencijalnih zapreka u primjeni na pacijentima.

**Ključne riječi:** nanotehnologija, zloćudni tumori



## II. Summary

### **The role of nanotechnology in the treatment and diagnosis of malignant tumors**

Ema Gudelj

Despite the progress of medicine, malignant tumors are still one of the leading health problems of the modern age. The use of current treatment modalities for malignant tumors still does not produce the desired results in a large number of cases. The development of science and the discovery of new technologies such as nanotechnology open up new possibilities in tumor therapy. Nanotechnology is a science whose foundations are based on the fact that particles in nano dimensions are subject to the laws of quantum mechanics and exhibit different properties in contrast to particles on a macro scale. Thanks to their specific behavior, they have a potential place in the diagnosis and therapy of malignant tumors, that is, they show promising possibilities in molecular diagnostics, as contrast agents in imaging diagnostics, then in the delivery of antitumor drugs to target sites in the body, and in photothermal, magnetothermal and gene therapy. Given that nanotechnology is a relatively young field in medicine, the possibilities of applying nanoparticles in the mentioned discipline and their impact on biological systems have not been sufficiently explored. In addition to knowing the basics of nanoparticles, it is important to know their behavior within the biological system so that they can be used for diagnostic and therapeutic purposes in humans. The aim of this paper is to gain a critical insight into nanotechnology through the basics of nanotechnology, its diverse use in oncology, the advantages of nanotechnology and potential obstacles in its application to patients.

**Key words:** nanotechnology, malignant tumors

## 1. Uvod

Prefiks "nano" potječe od grčke riječi "nanos" što znači patuljak, a u znanosti označava jediničnu veličinu od  $10^{-9}$  m. Nano-čestice su čestice reda veličine od 1 do 100 nm, a nanotehnologija je znanost koja se bavi primjenom i manipuliranjem takvim česticama. Nanotehnologija je multidisciplinarno područje koje je nastalo usklađivanjem znanja iz fizike, kemije, strojarstva i biologije [1]. Značaj nano-čestica u tehnologiji leži u činjenici da one ispoljavaju posebna svojstva zahvaljujući svojim nano-dimenzijama [2].

1959. godine Richard Feynman drži govori "There's plenty of room at the bottom" o elektromehaničnim uređajima veličine svega nekoliko milimetara (MEMS) te uvodi koncept nanotehnologije što je rezultiralo uključivanjem velikog broja znanstvenika u razvoj nove discipline [3]. Sam izraz nanotehnologija se pojavljuje tek 1974. godine kada ga japanski znanstvenik Norio Taniguchi spominje u kontekstu svođenja materijala na nano-dimenzije [1]. Nanotehnologija je dobila zamah 1980-ih godina otkrićem fullarena za što su zaslužni Kroto, Smalley i Curl [4] te izumom ugljičnih nanocjevčica 1991. godine [5]. Danas nanotehnologija ima svoju primjenu u velikom broju industrija.

## **2. Nanotehnologija u medicini**

Nanotehnologija nudi obećavajuće mogućnosti u unaprjeđivanju zdravstva na način da poboljšava učinkovitost već postojećih lijekova, nudi veće dijagnostičke mogućnosti, te ima značaj u protetici.

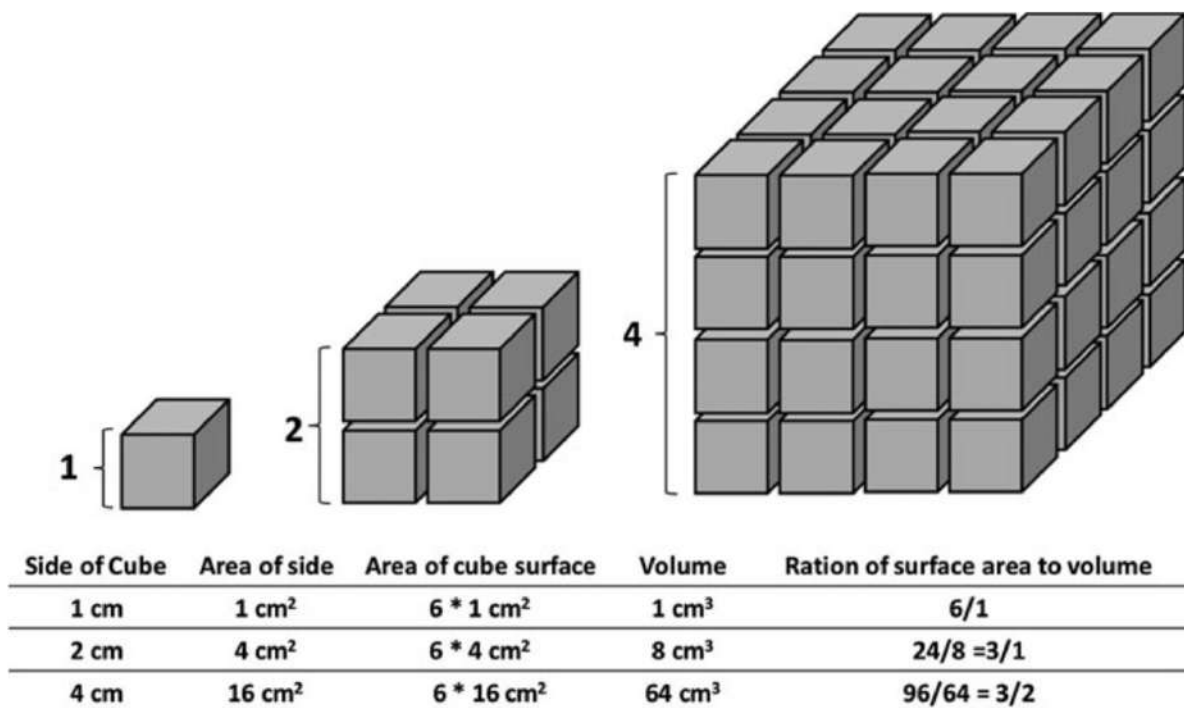
Kreiranjem uređaja na nano-razini koji istovremeno mogu pratiti više bioloških procesa u tijelu moguće je napraviti jedinstveni protokol koji je prilagođen organizmu pojedinca. Primjer toga su senzori koji se mogu implantirati u tijelo i pratiti fiziološke parametre poput pH, temperature, glukoze u krvi, krvnog tlaka. Analiza bioloških informacija pomoću nanotehnologije je brža, jeftinija te preciznija zbog čega se efikasnije može raspolagati sredstvima u zdravstvu, dok bi se kvaliteta zdravstvenih usluga poboljšala. Ta teza posebno vrijedi ukoliko se nanotehnologija upotrebljava u preventivnoj medicini.

Personaliziranim pristupom u medicini smanjujemo vjerojatnost nepotrebnih, a štetnih terapijskih postupaka, dok se ciljanim terapijskim postupcima poboljšava efikasnost.

U području protetike, nano-inženjerstvom materijala poboljšava se kvaliteta zglobnih implantata, umjetnih kosti, stentova, umjetnih zalistaka, kohlearnih implantata te umjetnih očnih leća [2].

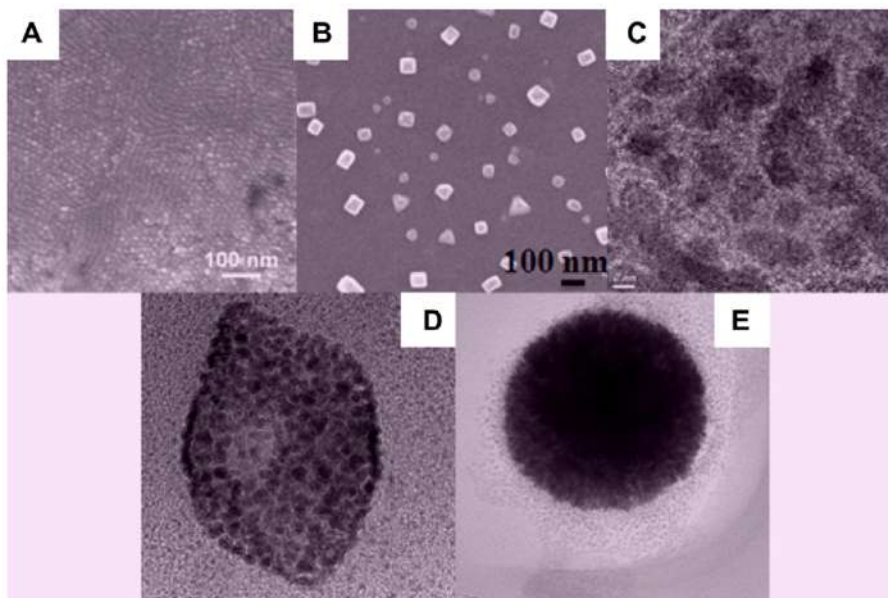
### 3. Svojstva nano-čestica

Smanjivanjem veličine tvari, omjer površine naspram volumena tvari raste u korist površini (slika 1), stoga raste i količina atoma na površini u odnosu na unutrašnjost tvari i posljedično preostaje veći broj neostvarenih kemijskih veza koji rezultira većom energijom površinskih atoma što uvjetuje povećanu reaktivnost nano-čestica [6]. Uslijed tako malih dimenzija, gravitacijska sila koja djeluje na čestice postaje zanemariva, dok elektromagnetske sile prevladavaju [7]. Iz tog razloga je primjerenije promatrati nano-čestice u okviru kvantne mehanike nego klasičnog mehaničkog modela [6]. Na razini nano-čestica, ponašanje i gibanje elektrona je različito od njihova ponašanja na makro-skali što omogućuje različita optička, magnetska i električna svojstva. Ovakva priroda nano-čestica uzrokuje razlike u svojstvima poput točke taljenja, fluorescencije, električne provodljivosti, magnetske permeabilnosti i kemijske reaktivnosti [8].



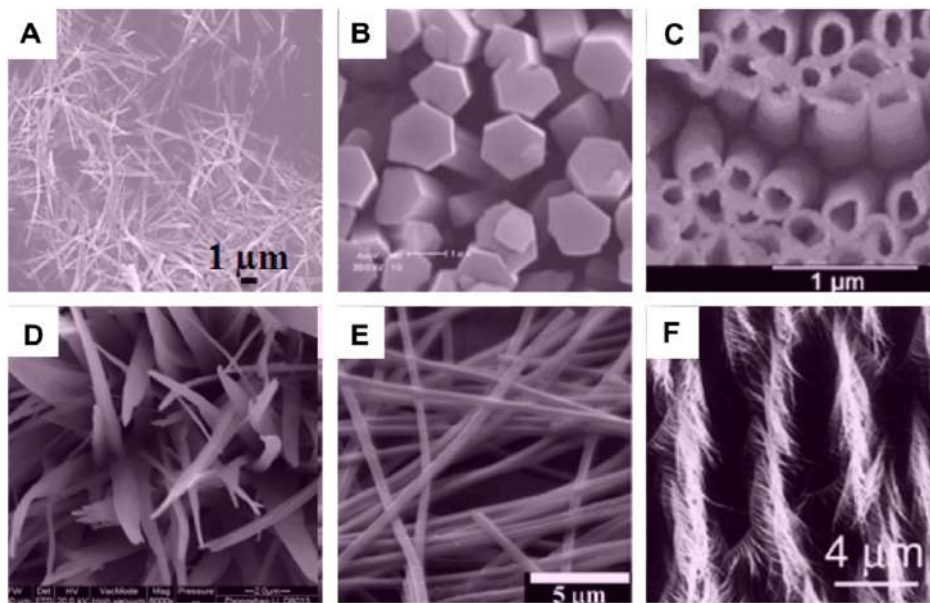
Slika 1. Povećanje omjera površine i volumena smanjenjem čestica. Prema: Pouran, HM. 2019. [9]

Materijali u nano-dimenzijama se prema Pokropivny and Skorokhod-ovoj shemi klasificiraju u 0D, 1D, 2D i 3D [10]. Oznake poput 0D, 1D, 2D i 3D označavaju broj dimenzija u kojima se materijal ne nalazi u nano-skali. 0D nano-čestice se primjenjuju u LED, laserima i solarnim ćelijama, a u njih spadaju kvantne točke, kvantne točke po modelu jezgra-ljuska, šuplje sfere i nano-leće (slika 2). 1D nano-čestice imaju najširu potencijalnu uporabu u velikom broju industrija, pa tako i u medicinskom sektoru. Do sada su sintetizirani sljedeći oblici 1D nano-čestica: nano-žice, nano-šipke, nano-cjevčice, nano-pojasi, nano-vrpce (slika 3) [11]. 2D nano-strukture podrazumijevaju čestice koje su u dvije dimenzije veličinom izvan nano-skale te imaju svoju primjenu u fotokatalizatorima, sensorima i nano-reaktorima [12]. Neke od 2D nano-struktura su razgranate strukture, nano-prizme, nano-ploče, nano-zidovi i nano-diskovi (slika 4) [11]. 3D nano-materijali su tvari koje niti u jednoj od triju dimenzija svojom veličinom ne ulaze u područje nano-skale. U 3D nano-materijale podrazumijevaju se disperzije nano-čestica, višebrojni nano-slojevi te snopovi nano-žica [13].



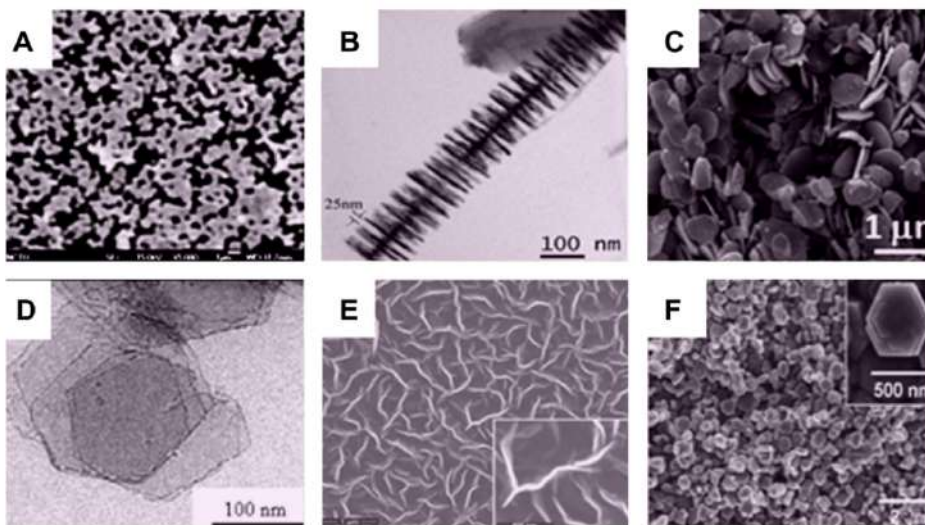
**Fig. 1.** Typical scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM) image of different types of 0D NSMs, which is synthesized by several research groups. (A) Quantum dots [20], (B) nanoparticles arrays, (C) core-shell nanoparticles, (D) hollow cubes, and (E) nanospheres. Reprinted by permission of the Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Slika 2. Prikazi oblika 0D nano-čestica. Prema: Tiwari et al, 2012. [11]



**Fig. 2.** Typical SEM image of different types of 1D NSMs, which is synthesized by several research groups. (A) Nanowires, (B) nanorods [32], (C) nanotubes [33], (D) nanobelts [34], (E) nanoribbons, [35] and (F) hierarchical nanostructures [36]. Reprinted by permission of the Japan Society of Applied Physics, Elsevier, IOP Publishing Ltd., and ACS publishers.

Slika 3. Prikazi oblika 1D nano-čestica. Prema: Tiwari et al, 2012. [11]



**Fig. 3.** Typical SEM and TEM image of different kinds of 2D NSMs, which is synthesized by our and several research groups. (A) Junctions (continuous islands), (B) branched structures [52], (C) nanoplates [54], (D) nanosheets [55], (E) nanowalls [56], and (F) nanodisks [57]. Reprinted by permission of IOP Publishing Ltd., The American Ceramic Society, and ACS Publishers.

Slika 4. Prikazi oblika 2D nano-čestica. Prema: Tiwari et al, 2012. [11]

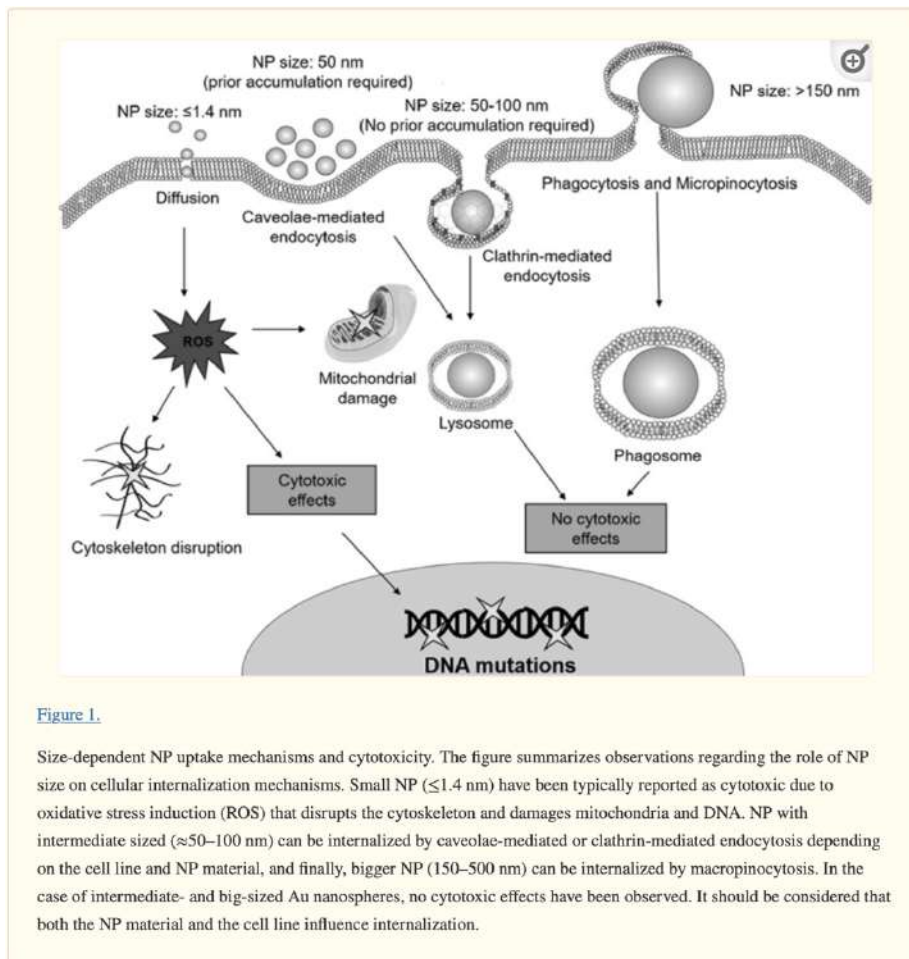
### 3.1 Svojstva nano-čestica u biološkim sustavima

Uvid u ponašanje nano-čestica u biološkim sustavima ključan je kako bi se što bolje moglo manipulirati nanotehnologijom sa ciljem promicanja zdravlja, odnosno terapijske i dijagnostičke svrhe. Različiti mediji koji imaju različita svojstva poput sastav iona, pH vrijednosti, koncentracije kisika te prisutnost organskih tvari utječu na stabilnost, agregaciju i površinski naboj nano-čestica [14, 15]. Nano-čestice u medijima se mogu naći u različitim stanjima poput zasebnih čestica sa nabojem, u agregatima nano-čestica, kompleksnim agregatima i te mogu biti u interakciji sa drugim nano-materijalima što može utjecati na njihovu stabilnosti, unos u stanicu, staničnu toksičnost i imunokompatibilnost [16, 17, 18].

Osim navedenog, aglomeracija i agregacija nano-čestica pokazuje nepogodnost u dijagnostičkom smislu zbog toga što takve formacije nano-čestica onemogućavaju točnu procjenu fotoaktivnosti [19]. Zbog prisutnosti različitih proteina u serumu poput albumina, fibronektina, komplemenata, fibrinogena, imunoglobulina te apolipoproteina, oko nano-čestica se stvara sloj proteina, odnosno proteinska kruna (protein corona) koja znatno utječe na njihova svojstva [20]. Zbog navedenog fenomena, učinkovitost nano-čestica koje sadrže ligande na svojoj površini u svrhu aktivnog ciljanja bila bi znatno kompromitirana [21].

Ulazak nano-čestice u stanicu ostvaruje se više načina- fagocitozom, mikropinocitozom, klatrinskom endocitozom, endocitozom posredovanom kaveolama ili direktnim transportom kroz staničnu membranu (slika 5) [22]. Iako optimalna veličina nano-čestice za proces unošenja nano-čestice u stanicu ovisi o tipu stanicu s kojim nano-čestica ulazi u kontakt, većina literature navodi 50 nm kao optimalnu veličinu za velik broj nano-čestica [14]. Manje nano-čestice imaju veću konstantu difuzije, ali slabije interakcije sa stanicom za razliku od većih nano-čestica. Općenito je uočeno da manje nano-čestice lakše ulaze u stanicu navedenim procesima [23, 24]. Osim same veličine nano-čestice, za aktivaciju procesa endocitoze potrebna je dovoljno jaka interakcija između nano-čestice i stanice [25]. Primjerice, potrebna je određena količina malih nano-čestice kako bi se pokrenuo proces unošenja tih čestica u stanicu. U nano-čestica od 10 nm primijećeno je da se akumuliraju na površinu stanične membrane prije endocitoze, dok se nano-čestice od 100 nm endocitiraju bez akumulacije na staničnu membranu [25]. Osim veličine nano-čestice za proces

endocitoze bitna je i veličina same stanice. U eksperimentalnom istraživanju pokazano je da veće stanice unesu veću ukupnu količinu nano-čestica zbog veće dodirne površine između čestica i stanice, ali da je unos nano-čestica po staničnoj površini manji zbog veće potrošnje energije koji zahtjeva endocitoza [26]. Prisutnost biološki aktivnih molekula na površini nano-čestice poput protutijela također pospješuje unos nano-čestice u stanicu [14]. Istraživanja pokazuju da se nano-čestice veličine 100 nm unose u stanice pretežito procesom endocitoze posredovane klatrinom, dok nano-čestice veće od 100 nm najčešće bivaju fagocitirane od strane dendritičkih stanica ili makrofaga [14, 22]. Bitno je istaknuti da veličina nano-čestice nije jedino svojstvo koje određuje način unosa nano-čestice u stanicu [14].



Slika 5. Prikaz načina unosa nano-čestica u stanicu. Prema: Villanueva-Flores et al, 2020. [14]



Naboj nano-čestice je bitan parametar kada se promatra unos nano-čestice pasivnim putem, odnosno difuzijom, kao što je prisutno u eritrocita. Pozitivno nabijene nano-čestice se u većoj mjeri unose u stanicu, dok negativan naboj i odsutnost naboja negativno utječe na transport nano-čestice u stanicu [14].

Hidrofobnost utječe na unos nano-čestica u stanicu na način da pospješuje prolaz hidrofobnih nano-čestica kroz membranu stanice [27].

Oblik nano-čestice utječe na njezin unos u stanicu. Primjerice, sferični oblici se lakše i brže endocitiraju nego nano-čestice oblika šipke [28]. Iako na eliminaciju nano-čestica uvelike utječe njezin oblik, veličina i molekularni sastav na njezinoj površini, većina se nano-čestica iz organizma eliminira renalnim i hepatobilijarnim putem [29].

#### 4. Nanotehnologija i zloćudni tumori

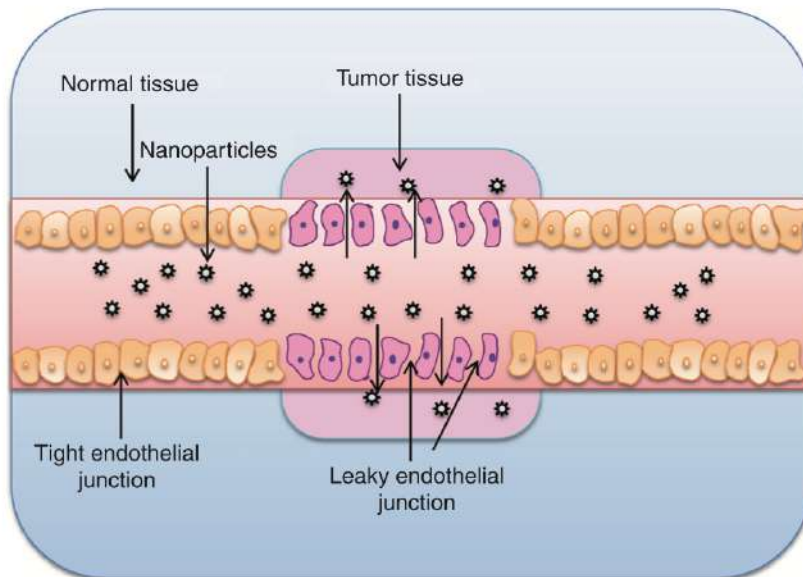
Kako bismo mogli uspješno liječiti zloćudne tumore, potrebno je poznavati fiziologiju tumorskih stanica. Tumorske stanice se razlikuju od zdravih po abnormalnosti regulatornih mehanizama zbog čega podliježu nekontroliranoj proliferaciji. S jedne strane imaju smanjene potrebe za faktorima rasta za razliku od normalnih stanica, s druge strane neke tumorske stanice proizvode svoje faktore rasta i sami stimuliraju proliferaciju [30].

Smanjena ekspresija adhezivnih molekula na površini čini tumorske stanice manje vezane za podlogu, što dovodi do invazije i metastaziranja tumorskih stanica [30]

Bitno svojstvo normalnih stanica, koje ne ispoljavaju tumorske, je fenomen kontaktne inhibicije-odnosno prestanka proliferacije u trenutku kada jedna stanica dodiruje drugu. Zbog izostanka kontaktne inhibicije tumorske stanice nastavljaju proliferirati čak i nakon kontakta sa susjednom stanicom te tvore neorganizirane višeslojne strukture stanica [30]. Tumorske stanice luče ekstracelularne proteaze koje olakšavaju invaziju u okolne strukture i metastaziranje. Tumori luče faktore rasta koji potiču angiogenezu i na taj način osiguravaju vaskularizaciju tumorskog tkiva. Te krvne žile nastale angiogenezom razlikuju se od normalnih krvnih žila po većem broju proliferirajućih endotelnih stanica, povećanoj tortuoznosti, nedostatku pericita i abnormalnoj bazalnoj membrani [31]. Pod utjecajem bradikinina, matriksnih metaloproteinaza, VEGF, NO, prostaglandina tumorske krvne žile postaju propusnije od normalnih [32]. Drugo obilježje koje razlikuje tumorske stanice od normalnih je visok tlak u intersticijskom odijeljku te nedostatak adekvatno strukturirane limfne mreže [33, 34]. Tumorske stanice ne prolaze proces stanične diferencijacije poput normalnih, nego taj proces stanične diferencijacije ostaje zakočen u ranim stadijima. Kako bi opstale, odnosno ne bi ušle u apoptozu normalne stanice su stimulirane faktorima rasta i signalima iz izvanstaničnog matriksa. Tumorske stanice ne trebaju faktore rasta kako bi preživjele i u odsutnosti tih faktora ne ulaze u apoptozu te imaju dulji vijek trajanja. Fenomen da tumorske stanice ne ulaze u apoptozu čini ih rezistentnima na zračenje i kemoterapiju [30].

Tumorske stanice razlikuju se od normalnih po sastavu i ekspresiji receptora na svojoj površini. Takve specifične promjene u receptorima na tumorskim stanicama pogoduju rastu i preživljenju tumorskog tkiva [35]. Zbog navedenih osobitosti, receptori na tumorskim stanicama predstavljaju metu u ciljanoj terapiji tumora.

Kada se razmatra farmakokinetika i biodistribucija lijekova u kontekstu tumorskih stanica, potrebno je uzeti EPR učinak u obzir. EPR učinak je izraz koji se upotrebljava u literaturi kako bi se istaknula povećana propusnost tumorske vaskulature i zadržavanje lijekova u tumorskom miljeu zbog neadekvatne limfne drenaže (slika 6) [36].



**Figure 6.1** Schematic representation of tumor targeting by nanoparticles via EPR effect

Slika 6. Prikaz EPR fenomena u tumorskim stanicama. Prema: Nimesh, S. 2013. [37]

## **5. Nanotehnologija u dijagnostici**

### **5.1 Molekularna dijagnostika**

Nanotehnologija predstavlja obećavajuće rješenje u ranoj dijagnostici zloćudnih tumora na temelju prepoznavanja biomarkera karakterističnih za određene tumore. Nano-čestice koje se najviše koriste u navedene svrhe jesu zlatne nano-čestice, kvantne točke, magnetne nano-čestice, ugljične nano-cjevčice i nano-žice [38]. Na njima se nalaze različite molekule koje pomažu u prepoznavanju tumorskih proteina. Kada dođu u kontakt s tumorskim proteinom, nano-čestice šalju optički, mehanički ili električni signal [39]. Primjerice, silikonske nano-žice koriste peptidne nukleinske kiseline kao receptor koji prepoznaju miRNA koja potječe od Hela stanica [40]. Zbog prisutnosti negativnog naboja miRNA, pri hibridizaciji peptidnih nukleinskih kiselina i miRNA nastaje razlika u otporu. Ta se razlika u otporu podudara sa koncentracijom miRNA u uzorku [40].

### **5.2 Radiografija**

Osim prepoznavanja tumorskih biljega, nano-čestice se koriste u različitim modalitetima slikovne dijagnostike poput rendgenske radiografije, CT, MR, OCT, ultrazvuka [2,41]. Većina nano-čestica podliježe fagocitozi od strane makrofaga te tako dopijeva u organe mononuklearno-fagocitnog sustava, te čine pogodno kontrastno sredstvo za slikovnu dijagnostiku jetre, slezene i limfnih čvorova [41, 42]. Načini na koje nano-čestice pomažu u slikovnoj dijagnostici tumorske vaskulature je putem pasivnog ciljanja gdje se iskorištava fenomen EPR te aktivnim ciljanjem gdje se nano-čestice vežu za promijenjeni endotel [43]. Prisutnost zlatnih nano-čestica u tkivu uzrokuje pojačano raspršenje rendgenskih zraka, čime bi se mogli uočiti tumori vrlo malih dimenzija. Upotreba zlatnih nano-čestica presvučenih polielektrolitnim slojem čini obećavajuću metodu dijagnostike zloćudnih tumora jetre. Tumorske stanice hepatocelularnog karcinom pojačano unose nano-čestice koje se sastoje od unutarnjeg anionskog sloja i vanjskog kationskog sloja. Kako bi se izbjeglo dopijevanje zlatnih nano-čestica u zdrava tkiva koristi se monoklonsko protutijelo FB50 na površini nano-čestice koje se veže za aspartil (asparaginil)- $\beta$ -hidroksilazu koja se nalazi na površini tumorskih stanica jetre [44]. Ovisno o količini zlatnih nano-

čestica unešenih u stanice hepatocelularnog karcinoma, vidljivost uslijed rendgenskog raspršivanja se poboljšava 5.7-17% [44, 45].

### **5.3 Kompjuterizirana tomografija**

Nedostaci kontrastnih sredstava na bazi joda i gadolinija koji se trenutno najviše koriste u dijagnostici CT-a su kratko poluvrijeme života, nespecifična biodistribucija i renalna toksičnost. Nano-čestice koje se razmatraju kao alternativa tradicionalnim kontrastnim sredstvima su polimerom obložene nano-čestice bizmutovog sulfida i zlatne nano-čestice [45, 46]. Prednosti nano-čestica od bizmutovog sulfida u usporedbi s tradicionalnim jodnim kontrastom su duže poluvrijeme života te pet puta veća apsorpcija rendgenskih zraka. Takve nano-čestice smatraju se prikladnim kontrastnim sredstvom zbog svoje biokompatibilnosti i stabilnosti [45]. Zlatne nano-čestice koje imaju široku primjenu u medicini čine pogodno kontrastno sredstvo zbog svog duljeg poluvremena života i povećane apsorpcije rendgenskih zraka. Istraživanja su pokazala kako zlatne čestice promjera 1.9 nm administrirane intravenskim putem mogu prikazati krvne žile promjera 100 mikrometara te su zbog toga izvršno sredstvo za prikazivanje tumorske vaskularizacije. Pogodno svojstvo navedenih nano-čestica je njihov manjak akumulacije u retikuloendotelnom sustavu jetre i slezene te njihova eliminacija renalnim putem [46]. Nedostatak nano-čestica ovako malih dimenzija je njihova toksičnost, stoga je potrebno ispitati njihov sigurnosni profil [47, 48]. Razvijene su preciznije metode CT dijagnostike uporabom zlatnih nano-čestica koje su selektivne za specifične tumorske antigene [49]. Primjer toga su zlatne nano-šipke konjugirane sa UM-A9 protutijelima koji su specifični za planocelularni karcinom glave i vrata. Ovaj primjer pokazuje da je uporabom aktivnog ciljanja nano-čestica moguće putem CT-a uočiti prisutnost zloćudnih tumora [49].

### **5.4 Magnetna rezonanca**

Magnetna rezonanca je izvršno sredstvo slikovne dijagnostike kojim se precizno mogu prikazati mekotkivne strukture te proučavati fiziološki i metabolički procesi u tijelu. Kontrastna sredstva koja se upotrebljavaju u MR-u mijenjanju vremena relaksacije T1 i T2 jezgara atoma koji se nalaze u njihovoj blizini. Način na koji kontrastna sredstva utječu na T1 i T2 ovisi o magnetnim svojstvima kontrastnog sredstva. Paramagnetni

materijali pokazuju magnetna svojstva samo kada se nalaze u magnetnom polju te smanjuju oba vremena relaksacije. Magnetni materijali zadržavaju svoja magnetna svojstva čak i prestankom rada magnetnog polja, a djeluju na jezgre tako da smanjuju T2 dok T1 ne mijenja svoju vrijednost [50]. Nano-čestice u kojima je magnetizacija u svakom dijelu jednaka pokazuju superparamagnetna svojstva. Poput paramagnetnih materijala, pod utjecajem vanjskog magnetnog polja pokazuju magnetna svojstva, no smjer magnetizacije može se promijeniti ovisno o temperaturi [51]. Superparamagnetni materijali smanjuju vrijednost T2, ali ne utječu na vrijednost T1 [50]. Nano-čestice koje su pogodne kao kontrastna sredstva za MR su nano-čestice željezovog oksida odnosno SPIO, fulareni u kojima je enkapsuliran gadolinij te ugljične nano-cjevčice koje enkapsuliraju gadolinij. Nano-čestice željezovog oksida zbog svojih superparamagnetskih svojstava stječu velike magnetske momente uslijed djelovanja magnetskog polja. Željezov oksid kao kontrastno sredstvo omogućuje poboljšani relativni kontrast te je potrebna manja doza kako bi se postigao adekvatan učinak kontrasta i time se smanjuje toksičnost i štetne nuspojave kontrasta na organizam. Osim navedenog, mala veličina i hidrofilan sloj oko nano-čestice omogućuju duži poluvijek života. Ferrixan ili Resovist® je nano-čestica željezovog oksida koja je u kliničkoj uporabi, dok je ferumoxtran odnosno pod registriranim imenima Combidex® ili Sinerem® u fazi kliničkih ispitivanja [52, 53]. Nedostatak SPIO nano-čestica poput željezovog oksida je njihova visoka toksičnost u nativnom obliku zbog čega ih je potrebno obložiti slojem biokompatibilnog materijala poput dekstrana, glikoproteina ili lipida [50]. Uporaba SPIO nano-čestica u magnetnoj rezonanci se pokazala osjetljivijom metodom u otkrivanju metastaza kolorektalnog karcinoma naspram PET CT-a [54].

#### 5.4.1 Resovist®

Resovist® odnosno Ferucarbotran je druga SPIO nano-čestica koja je odobrena za uporabu u kliničkoj praksi. Koristi se kao kontrastno sredstvo u MR-u pri prikazivanju retikuloendotelne sustava. Navedeno kontrastno sredstvo svoju primjenu ima u dijagnostici hepatocelularnog karcinoma, ciroze jetre te prije resekcijskih zahvata na jetri i transplantacije jetre. Sigurnosni profil Ferucarbotrana je pomno ispitan te mala količina kontrastnog sredstva koja se upotrebljava za dijagnostiku ne predstavlja

sigurnosni rizik za pacijente. U dinamičkim MR snimanjima Ferucarbotran se drugačije ponaša od gadolinija. Doza željeza koja se unosi u organizam je 10 puta niža od doze gadolinija koja se koristi kao kontrastno sredstvo. Zbog sporijeg unosa kontrasta u retikuloendotelni sustav, Resovist® ima duže poluvrijeme života. Povećanje signala u T1 slikama je manje, ali traje duže [35].

## **6. Nanotehnologija u terapiji**

### **6.1 Isporuka protutumorskih lijekova pomoću nano-čestica**

Konvencionalni protutumorski lijekovi unatoč svojoj učinkovitosti donose mnogo štetnih nuspojava zbog svoje visoke toksičnosti i manjka selektivnosti [55, 56, 57]. Drugi problem zbog kojeg se smanjuje učinkovitost kemoterapije je rezistentnost tumorskih stanica na lijekove. Ta se rezistentnost ostvaruje promijenjenim metabolizmom lijekova, smanjenim unosom lijeka, odnosno povećanim izbacivanjem lijeka iz stanice, povećanim popravkom stanica, preusmjeravanjem signalne transdukcije te mutacijama na ciljnim molekulama tumora [57, 58]. Primjenom nanotehnologije u liječenju tumora povećala bi se učinkovitost tumorskih lijekova, a smanjila učestalost štetnih nuspojava te bi se zaobišao problem tumorske rezistentnosti na kemoterapeutike [59, 60]. Nano-čestice u terapiji tumorskih stanica se najčešće primjenjuju kao sustavi isporuke protutumorskih lijekova. Nano-čestice u kojima su pohranjeni protutumorski lijekovi dolaze u različitim oblicima: kao polimerne nano-čestice, nano-emulzije, liposomi, micelle, dendrimeri, kvantne točke i ugljične nano-cjevčice [61, 62]. Načini na koje nano-čestice umanjuju rezistentnost tumorskih stanica na lijekove je zaobilaznjem transportera odgovornih za izbacivanje lijeka iz stanice, stimuliranjem pro-apoptotskih faktora i suprimiranjem anti-apoptotskih faktora [63, 64].

#### **6.1.1 Pasivno ciljanje**

Prema načinu isporuke lijekova u kontekstu nano-nosača razlikujemo aktivno ciljanje odnosno active targeting i pasivno ciljanje ili passive targeting (slika 7). Pasivno ciljanje uvjetovano je svojstvima nano-čestice poput veličine, naboja i oblika te karakterističnim svojstvima tumora poput njegove vaskulature [61]. Zbog povećane propusnosti tumorskih krvnih žila i neadekvatne limfne drenaže dolazi do nakupljanja nano-čestica u tumorska tkiva [1, 65, 32]. Primjeri lijekova koji se oslanjaju na mehanizam pasivnog ciljanja jesu Abraxane® i DaunoXome®.



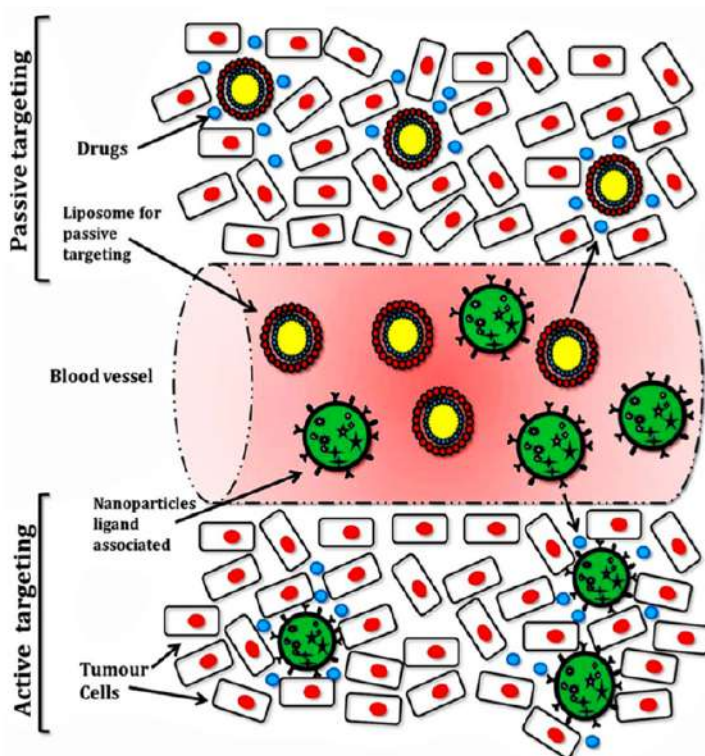
#### 6.1.1.1 Abraxane® i DaunoXome®

Abraxane® je paklitaksel vezan uz albumin koji se koristi u liječenju metastatskog karcinoma dojke [66]. Istraživanja su pokazala da Abraxane® dublje dopire u tumorska tkiva i ima pojačano protutumorsko djelovanje u usporedbi sa konvencionalnim paklitakselom [67]. Za razliku od paklitaksela koji se primjenjuje u konvencionalnom obliku, Abraxane® je pokazao 1.5 puta veću maksimalno dozu koju pacijenti toleriraju [66, 68]. DaunoXome® je daunorubicin inkapsuliran u liposom i odobren je od strane FDA za liječenje uznapredovalog Kaposijevog sarkoma [68, 61]. U istraživanju provedenog 2002. godine dokazano je da su tumorske stanice osjetljivije na djelovanje DaunoXome-a nego na djelovanje slobodnog daunorubicina. Smatra se da je uzrok tome zaštićenost lijeka u liposomu od strane P-glikoproteina i drugih proteina koji povećavaju multirezistentnost tumora na lijekove [80]

#### 6.1.2 Aktivno ciljanje

Za razliku od pasivnog ciljanja, aktivno ciljanje je specifičan oblik ciljanja lijekova koji se zasniva na specifičnoj interakciji liganda na nano-čestici i receptora na tumorskoj stanici [61]. Svaka tumorska stanica na svojoj površini sadrži mnoštvo biološki aktivnih molekula od kojih veliki broj čine receptori. Ekspresija tih receptora najčešće je takva da ide u korist rastu tumorskog tkiva, stoga neki receptori na tumorskim stanicama nastaju de novo i ne nalaze se na normalnim stanicama istog tkiva, dok neki receptori pokazuju prekomjernu ekspresiju [35]. Primjeri ovakvog fenomena je prekomjerna ekspresija folatnog receptora u 90% tumora jajnika, zatim osteosarkoma, koriokarcinoma [61]. Aktivno ciljanje za razliku od pasivnog olakšava proces unosa nano-čestice u tumorsku stanicu, dok se pasivnim ciljanjem nano-čestice samo dovode u intersticij tumora [69]. Aktivnim ciljanjem moguće je vrlo precizno postići isporuku lijeka inkapsuliranog u nano-čestice u određena mjesta u stanici čime se maksimalno smanjuju štetne nuspojave lijeka. PEGilirane nano-čestice od hitozana koje na površini imaju transferin primjer su aktivnog ciljanja te pokazuju uspjeh u prijenosu paklitaksela do tumorskih stanica [70]. Prednosti takve čestice su mogućnost primjene povećane terapijske doze te blokiranje P-glikoproteina koji vrši izbacivanje lijeka iz stanice [70]. Nanočestice paklitaksela koje na svojoj površini imaju

hijaluronsku kiselinu pokazuju se učinkovitima u liječenju tumora koji na svojoj površini eksprimiraju CD44 receptor. Istraživanjima iz 2015 godine ustanovljeno je 4 puta veći unos navedenih nanočestica u tumorske stanice te se tumorski rast usporio 31.89%. Navedeni učinci aktivne isporuke protutumorskih lijekova nanočesticama bi mogli povećati vrijeme preživljenja [81].



**Fig. (4).** Liposome mediated active and passive drug targeting. Active targeting involves conjugation of ligands to the liposome that bind to a specific target cell receptor. Passive targeting can be mediated by internalization or local high-concentration release of the drug.

Slika 7. Isporučka lijekova putem aktivnog i pasivnog ciljanja. Prema: Chaturvedi et al, 2018. [61]

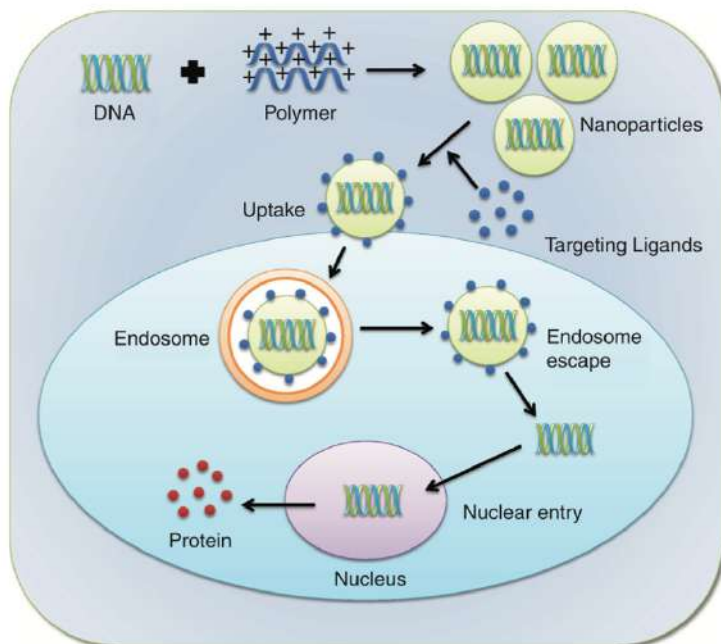
## 6.2 Fototermalna i magnetotermalna terapija

Fototermalnom terapijom i magnetotermalnom terapijom postiže se uništenje tumorskog tkiva toplinskom energijom pritom koristeći nano-čestice. Nano-čestice u fototermalnoj i magnetotermalnoj terapiji isporučuju toplinsku energiju kada su stimulirane vanjskim podražajem poput laserom u fototermalnoj ili oscilirajućim magnetnim poljem u magnetotermalnoj terapiji [71]. U fototermalnoj terapiji koriste se metalne nano-čestice, prirodni kromofori i markeri koje apsorbiraju svjetlo poput indocyanin green ili naftalocijanin [61]. Cilj fototermalne terapije je isporuka

fototermalnih sredstava poput navedenih nano-čestica koje precizno denaturiraju proteine i time uništavaju tumorsko tkivo bez zahvaćanja zdravog tkiva. Korisno svojstvo nano-čestica veličine 10-100 nm je apsorpcija svjetlosti i pretvaranje svjetlosti u toplinsku energiju [72]. Osim uništavanja tumorskog tkiva toplinskom energijom, zamijećeno je posebno svojstvo zlatnih nano-čestica koje uništavaju tumorsko tkivo mehaničkom energijom uslijed stvaranja kavitacija [73, 74]. Ono što čini fototermalnu terapiju obećavajućom je njezin sinergistički protutumorski učinak kada se upotrebljava zajedno s kemoterapijom. Kombinacija fototermalne terapije i kemoterapije rezultira pojačanom citotoksičnošću alkilirajućih lijekova i lijekova na bazi platine [74]. Kao čestice od posebnog interesa u termo-kemoterapiji se proučavaju zlatne nano-čestice zbog toga što se mogu koristiti i kao nosači za lijekove i zbog njihove sposobnosti konverzije svjetlosne energije u toplinsku uslijed izlaganja laserom [76]. Nano-čestice koje se upotrebljavaju u magnetotermalnoj terapiji poput željezovog oksida imaju svoju primjenu i kao kontrastno sredstvo u MR [76].

### **6.3 Genska terapija**

Genska terapija je jedan od modaliteta liječenja zloćudnih tumora čiji se mehanizam djelovanja zasniva na zamjeni defektnog gena kopijom zdravog gena, inaktivacijom defektnog gena ili uvođenjem novog gena koji ima terapijske učinke [61, 77]. Uloga nanotehnologije u genskoj terapiji je korištenje nano-čestica kao sustava koji će isporučiti određen gen na ciljno mjesto u stanici [61]. Prednost uporabe nano-čestica naspram viralnih vektora je bolji sigurnosni profil [37]. Kako bi genska terapija pomoću nanotehnologije bila učinkovita nužna je stabilnost kompleksa nano-čestice i gena koji se transportiraju u njoj, unos nano-čestice u stanicu, bijeg od endosoma kako kompleks ne bi podlegao razgradnji lizosomskim enzimima, transport kroz citoplazmu i dospijevanje u jezgru kako bi moglo doći do transkripcije gena [37]. Zbog niske toksičnosti, niske imunogeničnosti, visoke biokompatibilnosti i pozitivnog ionskog naboja nano-čestice od hitozana čine obećavajuće vektore u genskoj terapiji [78, 79].



**Figure 5.1** Schematic representation of the **mechanism** of gene delivery. It is a multi-step process that involves condensation of DNA, the cellular uptake of nanoparticle–DNA complexes, escape from degradation vesicles, intracellular movement or “trafficking,” nuclear translocation, and finally unpacking, followed by translation

Slika 8. Mehanizam genske terapije pomoću nano-čestica. Prema: Nimesh, S. 2013. [37]

## 7. Zaključak

Nano-čestice postaju zastupljene u sve većem broju znanstvenih disciplina te nanotehnologija ima sve veći značaj u onkologiji. Nanotehnologija nudi nove mogućnosti u liječenju i dijagnostici zloćudnih tumora koje bi mogle promijeniti negativan ishod bolesti u velikom broju pacijenata. Korištenjem nano-čestica u molekularnoj dijagnostici, zloćudnih tumora bi se dijagnosticirali u ranijim stadijima te bi liječenje istih polučilo veće uspjehe. Osim u molekularnoj dijagnostici, zbog pogodnih svojstava, nano-čestice se upotrebljavaju i kao kontrastno sredstvo u slikovnoj dijagnostici poput CT, MR te radiografiji. U liječenju zloćudnih tumora povećavaju efikasnost već postojećih protutumorskih lijekova jer omogućuju ciljano dopremanje lijeka na željeno mjesto. S druge strane smanjuju toksične nuspojave koje nastaju zbog manjka selektivnosti konvencionalnih lijekova. Fototermalna i magnetotermalna terapija toplinsko energijom destruktivno djeluju na tumorska tkiva te imaju sinergistički učinak ako se kombiniraju sa kemoterapijom. U genskoj terapiji nano-čestice se razmatraju kao pogodnija alternativa viralnih vektorima zbog boljeg sigurnosnog profila. Zbog mogućnosti raznolike primjene u medicini nanotehnologija se smatra obećavajućom granom za razvoj medicine. S obzirom da je nanotehnologija mlada znanost, utjecaj nano-čestica u biološkim sustavima, njihov sigurnosni profil i učinkovitost nije dovoljno istražen da bi se upotrebljavale u svakodnevnoj praksi.

## **8. Zahvale**

Zahvaljujem svome mentoru prof. dr. sc. Nikoli Đakoviću koji je svojim primjerom nadahnuće mladim znanstvenicima, na vodstvu, ljubaznosti i savjetima. Zahvaljujem svojim roditeljima i sestri na velikoj podršci i ljubavi koje su imale velik utjecaj u mom životu za vrijeme studiranja.

## **9. Životopis**

Rođena sam 22. studenoga 1996. godine u Zagrebu. Prvih pet godina djetinjstva sam provela u Njemačkoj, zatim pohađala Osnovnu školu Izidora Kršnjavoga u Zagrebu, te potom I. gimnaziju u Zagrebu. Od rano sam pokazivala velik interes za prirodne predmete, umjetnost i strane jezike od kojih tečno govorim njemački i engleski, te dobro francuski. Medicinski fakultet u Zagrebu sam upisala 2015./16. godine.

## 10. Literatura

1. Sahoo SK, Parveen S, Panda JJ. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine*. 2007;3:20–31.
2. Tibbals HF. *Nanomedicine: Scientific Basis and Societal Implications*. U: Tibbals HF, ur. *Medical nanotechnology and nanomedicine*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2011. Str. 5-20.
3. Panchapakesan B, Wickstrom E. Nanotechnology for Sensing, Imaging, and Treating Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2007;16:293–305.
4. Hulla J, Sahu S, Hayes A. Nanotechnology: History and future. *Hum Exp Toxicol*. 2015;34:1318–21.
5. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. 1991;354:56–8.
6. Obuljen A. *Mogućnosti terapijske primjene nanomaterijala u veterinarskoj medicini*. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, 2018.
7. Giorgi F, Coglitore D, Curran JM *et al*. The influence of inter-particle forces on diffusion at the nanoscale. *Sci Rep*. 2019;9:12689.
8. NANO. What Is So Special About Nano? [Internet]. Alexandria (VA): National Nanotechnology Initiative; 2021 [pristupljeno 29.8.2022]. Dostupno na: <https://www.nano.gov/about-nanotechnology/what-is-so-special-about-nano> .
9. Pouran HM. Engineered Nanomaterials in the Environment, their Potential Fate and Behaviour and Emerging Techniques to Measure Them. U: Hussain CM, *Handbook of Environmental Materials Management*. Springer. 2019:1–15.
10. Pokropivny VV, Skorokhod VV. Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Mater Sci Eng C*. 2007;27:990–3.
11. Tiwari JN, Tiwari RN, Kim KS. Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. *Prog Mater Sci*. 2012;57:724–803.



12. Pradhan D, Leung KT. Vertical Growth of Two-Dimensional Zinc Oxide Nanostructures on ITO-Coated Glass: Effects of Deposition Temperature and Deposition Time. *J Phys Chem C*. 2008;112:1357–64.
13. Madkour LH. Classification of Nanostructured Materials. U: Madkour LH, *Nanoelectronic Materials*. Cham: Springer; 2019. Str. 269–307.
14. Villanueva-Flores F, Castro-Lugo A, Ramírez OT, Palomares LA. Understanding cellular interactions with nanomaterials: towards a rational design of medical nanodevices. *Nanotechnology* 2020;31:132002.
15. Lau CP, Abdul-Wahab MF, Jaafar J, Chan GF, Rashid NAA. Effect of pH and biological media on polyvinylpyrrolidone-capped silver nanoparticles. *AIF Conf Proc*. 2016,080002.
16. Sharma VK, Sayes CM, Guo B *et al*. Interactions between silver nanoparticles and other metal nanoparticles under environmentally relevant conditions: A review. *Sci Total Environ*. 2019;653:1042–51.
17. Peer D. Immunotoxicity derived from manipulating leukocytes with lipid-based nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64:1738–48.
18. Albanese A, Chan WCW. Effect of Gold Nanoparticle Aggregation on Cell Uptake and Toxicity. *ACS Nano* 2011;5:5478–89.
19. Pellegrino F, Pellutiè L, Sordello F *et al*. Influence of agglomeration and aggregation on the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Appl Catal B*. 2017;216:80–7.
20. Lundqvist M, Stigler J, Elia G, Lynch I, Cedervall T, Dawson KA. Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. *PNAS* 2008;105:14265–70.
21. Zhang H, Wu T, Yu W, Ruan S, He Q, Gao H. Ligand Size and Conformation Affect the Behavior of Nanoparticles Coated with in Vitro and in Vivo Protein Corona. *ACS Appl Mat Interfaces*. 2018;10:9094–103.
22. Auría-Soro C, Nesma T, Juanes-Velasco P *et al*. Interactions of Nanoparticles and Biosystems: Microenvironment of Nanoparticles and Biomolecules in Nanomedicine. *Nanomaterials*. 2019;9:1365.

23. Shi W, Wang J, Fan X, Gao H. Size and shape effects on diffusion and absorption of colloidal particles near a partially absorbing sphere: Implications for uptake of nanoparticles in animal cells. *Phys Rev E*. 2008;78:061914.
24. Elbakry A, Wurster E-C, Zaky A *et al*. Layer-by-Layer Coated Gold Nanoparticles: Size-Dependent Delivery of DNA into Cells. *Small*. 2012;8:3847–56.
25. Shang L, Nienhaus K, Jiang X *et al*. Nanoparticle interactions with live cells: Quantitative fluorescence microscopy of nanoparticle size effects. *Beilstein J Nanotechnol*. 2014;5:2388–97.
26. Wang X, Hu X, Li J *et al*. Influence of cell size on cellular uptake of gold nanoparticles. *Biomater Sci*. 2016;4:970–8.
27. Samadi Moghaddam M, Heiny M, Shastri VP. Enhanced cellular uptake of nanoparticles by increasing the hydrophobicity of poly(lactic acid) through copolymerization with cell-membrane-lipid components. *ChemComm*. 2015;51:14605–8.
28. Champion JA, Mitragotri S. Role of target geometry in phagocytosis. *PNAS*. 2006;103:4930–4.
29. Otsuka H, Nagasaki Y, Kataoka K. PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003;55:403–19.
30. Cooper GM. Development and Causes of Cancer. U: Cooper GM, ur. *The Cell: A Molecular Approach*. 8. izd. New York: Sinauer Associates; 2019. Str. 669-76.
31. Seymour LW. Passive tumor targeting of soluble macromolecules and drug conjugates. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 1992;9:135–87.
32. Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *JCR*. 2000;65:271–84.
33. Jain RK. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res*. 1987;47:3039–51.

34. Wu J. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application. *J Pers Med*. 2021;11.
35. Zeromski J. Significance of tumor-cell receptors in human cancer. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2002;50:105–10.
36. Alamzadeh Z, Beik J, Pirhajati Mahabadi V *et al*. Ultrastructural and optical characteristics of cancer cells treated by a nanotechnology based chemophotothermal therapy method. *Photochem Photobiol B*. 2019;192:19–25.
37. Nimesh S. Gene therapy: Potential applications of nanotechnology. Cambridge: Woodhead Publishing; 2013. Str. 113-7
38. Choi YE, Kwak JW, Park JW. Nanotechnology for Early Cancer Detection. *Sensors*. 2010;10:428–55.
39. Nie S, Xing Y, Kim GJ, Simons JW. Nanotechnology Applications in Cancer. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007;9:257–88.
40. Zhang GJ, Chua JH, Chee RE, Agarwal A, Wong SM. Label-free direct detection of MiRNAs with silicon nanowire biosensors. *Biosens*. 2009;24:2504–8.
41. Desser TS, Rubin DL, Muller H, McIntire GL, Bacon ER, Toner JL. Blood pool and liver enhancement in CT with liposomal Iodixanol: Comparison with Iohexol. *Acad Radiol*. 1999;6:176–183.
42. Weissleder R, Elizondo G, Stark DD *et al*. The diagnosis of splenic lymphoma by MR imaging: value of superparamagnetic iron oxide. *AJR Am J Roentgenol*. 1989;152:175–80.
43. Baetke SC, Lammers T, Kiessling F. Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer. *Br J Radiol Suppl*. 2015;88:20150207.
44. Rand D, Ortiz V, Liu Y *et al*. Nanomaterials for X-ray Imaging: Gold Nanoparticle Enhancement of X-ray Scatter Imaging of Hepatocellular Carcinoma. *Nano Lett*. 2011;11:2678–83.

45. Rabin O, Manuel Perez J, Grimm J, Wojtkiewicz G, Weissleder R. An X-ray computed tomography imaging agent based on long-circulating bismuth sulphide nanoparticles. *Nat Mater*. 2006;5:118–22.
46. Hainfeld JF, Slatkin DN, Focella TM, Smilowitz HM. Gold nanoparticles: a new X-ray contrast agent. *Br J Radiol*. 2006;79:248–53.
47. Jiang W, Kim BYS, Rutka JT, Chan WCW. Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. *Nat Nanotechnol*. 2008;3:145–150.
48. Pan Y, Neuss S, Leifert A *et al*. Size-Dependent Cytotoxicity of Gold Nanoparticles. *Small*. 2007;3:1941–9.
49. Popovtzer R, Agrawal A, Kotov NA *et al*. Targeted Gold Nanoparticles Enable Molecular CT Imaging of Cancer. *Nano Lett*. 2008;8:4593–6.
50. Matson ML, Wilson LJ. Nanotechnology and MRI contrast enhancement. *Future Med Chem*. 2010;2:491–502.
51. Marghussian V. Magnetic Properties of Nano-Glass Ceramics. U: Marghussian V, Nano-Glass Ceramics. Oxford: Elsevier, 2015. Str, 181–223.
52. Reimer P, Balzer T. Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RES-specific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications. *Eur Radiol*. 2003;13: 1266–76.
53. Wang YX. Current status of superparamagnetic iron oxide contrast agents for liver magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol*. 2015;21:13400–2..
54. Rappeport ED, Loft A, Berthelsen AK *et al*. Contrast-enhanced FDG-PET/CT vs. SPIO-enhanced MRI vs. FDG-PET vs. CT in patients with liver metastases from colorectal cancer: a prospective study with intraoperative confirmation. *Acta Radiol*. 2007;48:369–78.
55. Smart E, Lopes F, Rice S *et al*. Chemotherapy drugs cyclophosphamide, cisplatin and doxorubicin induce germ cell loss in an in vitro model of the prepubertal testis. *Sci Rep*. 2018;8:1773.

56. Pearce A, Haas M, Viney R *et al.* Incidence and severity of self-reported chemotherapy side effects in routine care: A prospective cohort study. *PLoS One*. 2017;12:e0184360.
57. Nwosu ZC, Piorońska W, Battello N *et al.* Severe metabolic alterations in liver cancer lead to ERK pathway activation and drug resistance. *eBioMedicine*. 2020;54:102699.
58. Gupta SK, Singh P, Ali V, Verma M. Role of membrane-embedded drug efflux ABC transporters in the cancer chemotherapy. *Oncol Rev*. 2020;14:448.
59. Tran S, DeGiovanni P, Piel B, Rai P. Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clin Transl Med*. 2017;6.
60. Craig M, Jenner AL, Namgung B, Lee LP, Goldman A. Engineering in Medicine To Address the Challenge of Cancer Drug Resistance: From Micro- and Nanotechnologies to Computational and Mathematical Modeling. *Chem Rev*. 2021;121:3352–89.
61. Chaturvedi VK, Singh A, Singh VK, Singh MP. Cancer Nanotechnology: A New Revolution for Cancer Diagnosis and Therapy. *Curr Drug Metab*. 2019;20:416–29.
62. Gavas S, Quazi S, Karpiński TM. Nanoparticles for Cancer Therapy: Current Progress and Challenges. *Nanoscale Res Lett*. 2021;16:173.
63. Agarwal R, Kaye SB. Ovarian cancer: strategies for overcoming resistance to chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2003;3:502–16.
64. Viktorsson K, Lewensohn R, Zhivotovsky B. Apoptotic Pathways and Therapy Resistance in Human Malignancies. *Adv Cancer Res*. 2005:143–96.
65. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*. 1986;46:6387–92.
66. Tomao S. Albumin-bound formulation of paclitaxel (Abraxane<sup>®</sup>; ABI-007) in the treatment of breast cancer. *Int J Nanomedicine*. 2009;99.

67. Desai N, Trieu V, Yao Z *et al.* Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor-free, albumin-bound paclitaxel, ABI-007, compared with cremophor-based paclitaxel. *Clin Cancer Res* 2006;12:1317–24.
68. Rosenthal E, Poizot Martin I, Saint-Marc T, Spano JP, Cacoub P. Phase IV study of liposomal daunorubicin (DaunoXome) in AIDS-related Kaposi sarcoma. *Am J Clin Oncol.* 2002;25:57–9.
69. Bazak R, Hourri M, el Achy S, Kamel S, Refaat T. Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2015;141:769–84.
70. Nag M, Gajbhiye V, Kesharwani P, Jain NK. Transferrin functionalized chitosan-PEG nanoparticles for targeted delivery of paclitaxel to cancer cells. *Colloids Surf B.* 2016;148:363–70.
71. Jaque D, Martínez Maestro L, del Rosal B *et al.* Nanoparticles for photothermal therapies. *Nanoscale.* 2014;6:9494–530.
72. Svaasand LO, Gomer CJ, Morinelli E. On the physical rationale of laser induced hyperthermia. *Lasers Med Sci.* 1990;5:121–8.
73. Zharov VP, Kelly EGCJT. Synergistic enhancement of selective nanophotothermolysis with gold nanoclusters: Potential for cancer therapy. *Lasers Surg Med.* 2005;37:329.
74. Dahl O. Interaction of Heat and Drugs In Vitro and In Vivo. U: Seegenschmiedt MH, Fessenden P, Vernon CC, ur. *Thermoradiotherapy and thermochemotherapy.* Cham: Springer; 1995. Str. 103–21.
75. Mansoori GA, Brandenburg KS, Shakeri-Zadeh A. A Comparative Study of Two Folate-Conjugated Gold Nanoparticles for Cancer Nanotechnology Applications. *Cancers* 2010;2:1911–28.
76. Gupta A, Pandey RK. Supramolecular Approach for Tumor Imaging and Photodynamic Therapy U: Schneider HJ. *Supramolecular systems in biomedical fields.* 13. izd. Cambridge: RSC; 2013. Str. 461-2

77. FDA. What is Gene Therapy? [Internet]. Silver Spring (MD): US Food and Drug Administration; 2018 [pristupljeno 29.8.2022]. Dostupno na: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/what-gene-therapy> .
78. Peniche H, Peniche C. Chitosan nanoparticles: a contribution to nanomedicine. *Polym Int*. 2011;60:883–9.
79. Lee MK, Chun SK, Choi WJ *et al*. The use of chitosan as a condensing agent to enhance emulsion-mediated gene transfer. *Biomaterials*. 2005;26:2147–56.
80. Russo D, Piccaluga P, Michieli M *et al*. Liposomal daunorubicin (DaunoXome) for treatment of poor-risk acute leukemia. *Ann Hematol*. 2002;81:462–6.
81. Yin S, Huai J, Chen X *et al*. Intracellular delivery and antitumor effects of a redox-responsive polymeric paclitaxel conjugate based on hyaluronic acid. *Acta Biomaterialia*. 2015;26:274–85.