

Zastosowanie nanocząsteczek w leczeniu i diagnostyce nowotworów

Katarzyna Błaszczak-Świątkiewicz, Paulina Olszewska, Elżbieta Mikiciuk-Olasik

Nanotechnologia jest nowym interdyscyplinarnym działem nauki, zajmującym się konstrukcją nanocząsteczek, i jej osiągnięcia są wykorzystywane w farmacji i medycynie. Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. Stosunkowo późne wykrycie zmian nowotworowych oraz mała skuteczność standardowych metod leczenia — ze względu na brak specyficzności i dużą toksyczność — niekorzystnie wpływają na rokowanie pacjentów. Wykorzystanie nanocząsteczek w diagnostyce molekularnej umożliwia wczesne wykrycie guzów i tym samym rozpoczęcie wcześniejszego leczenia. Nanocząsteczki mają również ogromne zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej jako nośniki związków terapeutycznych, co powoduje wzrost ich biodostępności i akumulacji w obszarze guzów i zapewnia dostarczenie leków w efektywnych dawkach. Opłaszczenie nanocząsteczek specyficznymi ligandami lub przeciwciałami umożliwia celowaną terapię, co nie tylko zwiększa skuteczność leczenia, ale także istotnie zmniejsza cytotoksyczność na komórki prawidłowe. Na uwagę zasługują wielofunkcyjne nanocząsteczki, które są stosowane do jednoczesnego wykrycia zmian nowotworowych i ich leczenia. Wykorzystanie nanocząsteczek w onkologii daje możliwość wczesnej diagnozy, dostarczenia leków specyficznym do komórek nowotworowych w skutecznej dawce oraz monitorowanie postępów terapii.

Applications of nanoparticles in cancer treatment and diagnosis

Nanotechnology is the design and assembly of submicroscopic devices called nanoparticles. The application of nanotechnology to medicine has the potential for significant improvements in disease diagnosis and treatment. Cancer remains one of the most deadly diseases in the world, and the number of new cases increases each year. Current diagnosis and treatment of cancer have major limitations such as poor sensitivity or lack of specificity and drug toxicities. Application of nanoparticles in molecular imaging techniques enables earlier detection and treatment of tumors by increasing sensitivity of signals and targeting of contrast agents directly into cancer cells. The development of nanoparticles offers improved chemotherapeutic delivery through increased solubility and by being accumulated and entrapped in tumours. Active targeting of nanoparticles through conjugation of tumour-specific cell surface markers, such as tumour-specific antibody or ligands, enhances the efficacy of nanoparticle delivery systems by receptor-mediated endocytosis while significantly reducing toxicity. The most exciting advances in nanomedicine are multifunctional nanoparticles designed to carry detection signals and therapeutics used for simultaneous imaging of tumors and therapy. Rapid advances in nanotechnology are having a profound impact on earlier cancer diagnosis, targeting therapy and monitoring of treatment.

NOWOTWORY Journal of Oncology 2013; 63, 4: 320–330

Słowa kluczowe: nanocząsteczki, nowotwory, chemioterapia, radioterapia, obrazowanie molekularne

Key words: nanoparticles, cancer, chemotherapy, radiotherapy, molecular imaging

Wstęp

Nanotechnologia jest nowym interdyscyplinarnym działem nauki i techniki, zajmującym się projektowaniem i tworzeniem struktur zwanych nanocząsteczkami, których wielkość mieści się w zakresie 5-100 nm [1–3]. Należy ona do jednej z najpopularniejszych obecnie dziedzin nauki i jej rozwój ma ogromne znaczenie w farmacji i medycynie [3–4]. W nanofarmacji nanocząstki służą jako nośniki substancji terapeutycznych, umożliwiając celowaną terapię dzięki opłaszczeniu ligandami, które łączą się ze specyficznymi receptorami na powierzchni komórek zmienionych chorobowo, a także są używane w badaniach obrazowych do detekcji zmian chorobowych. Z tego względu nanocząsteczki doskonale nadają się do diagnostyki i terapii różnych chorób, co umożliwia wcześniejsze wykrycie zmian patologicznych i skuteczniejsze leczenie pacjentów [4].

Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn zachorowań i zgonów na świecie. Każdego roku szacuje się około 10 milionów nowych przypadków zachorowań [5]. W 2009 roku w Polsce odnotowano ponad 138 000 nowych przypadków zachorowań i 93 000 zgonów z powodu nowotworów [6]. Do standardowych metod leczenia nowotworów należą chemioterapia oraz radioterapia — w przypadku niemożności operacyjnego usunięcia guza [7]. Standardowe schematy terapii przeciwnowotworowej są mało skuteczne ze względu na brak specyficzności w stosunku do komórek nowotworowych i rozwój lekooporności. Główną przyczyną niskiej skuteczności leczenia chorób nowotworowych jest ograniczona biodostępność oraz brak specyficzności konwencjonalnych chemioterapeutyków, co przyczynia się do niszczenia nie tylko komórek nowotworowych, ale również komórek prawidłowych, i w konsekwencji prowadzi do poważnych działań niepożądanych [8, 9]. Drugą istotną przyczyną oporności na standardową terapię jest mikrośrodkowisko guzów litych, które cechuje się hipoksją i aktywacją HIF-1 oraz nieprawidłowym unaczynieniem guza [10]. Aktywacja HIF-1 przyczynia się do transkrypcji genów kodujących białka odpowiedzialne za zwiększenie przeżywalności i proliferacji komórek nowotworowych oraz angiogenezę, i również zmniejsza skuteczność chemioterapii [11]. Z tego względu poszukuje się nowych metod i strategii leczenia chorób nowotworowych.

Obecnie onkologia i diagnostyka molekularna są jednymi z istotnych działów medycyny, gdzie wykorzystuje się osiągnięcia nanotechnologii. Nanofarmacja — dzięki zastosowaniu różnorodnych cząsteczek w skali nano — daje możliwość skutecznego leczenia nowotworów poprzez zwiększenie biodostępności, celowaną terapię i dostarczenie leków w efektywnym stężeniu do komórek nowotworowych [12,13]. Rozwój różnych systemów nanocząsteczek opłaszczanych specyficznymi markerami umożliwia nie tylko selektywne dostarczenie związków terapeutycznych bezpośrednio do komórek nowotworowych, ale również

przyczynia się do ominięcia zjawiska lekooporności [4, 8, 9]. Ponadto nanocząsteczki są wykorzystywane w diagnostyce chorób nowotworowych jako czynniki kontrastowe, których detekcja możliwa jest za pomocą różnych metod obrazowania. Nieorganiczne nanocząsteczki, zastosowane w obrazowaniu molekularnym, umożliwiają wykrycie guzów we wczesnym stadium rozwoju oraz monitorowanie postępów terapii [4]. Trzeba podkreślić, że obecnie ogromne znaczenie w onkologii mają wielofunkcyjne nanocząsteczki, które jednocześnie są wykorzystywane do detekcji nowotworów oraz do ich leczenia, co daje możliwość obrazowania skuteczności terapii [14]. Podsumowując, szybki postęp w osiągnięciach nanotechnologii ma ogromny wpływ na wczesną detekcję nowotworów, umożliwia ich celowaną terapię oraz monitorowanie skuteczności leczenia, co istotnie poprawia rokowanie pacjentów.

1. Wykorzystanie nanocząsteczek w terapii przeciwnowotworowej

Istotnym problemem w obecnej terapii przeciwnowotworowej jest brak specyficzności w stosunku do komórek nowotworowych, co powoduje cytotoksyczność również w stosunku do prawidłowych komórek oraz pojawienie się lekooporności. Ponadto ograniczona jest możliwość monitorowania odpowiedzi terapeutycznej pacjenta podczas leczenia [9, 15, 16]. Nanotechnologia daje ogromne możliwości w pokonaniu ograniczeń konwencjonalnej terapii przeciwnowotworowej. Opracowuje się różne formy i struktury nanokompozytów, które mogą być specyficznym wykorzystywane do leczenia nowotworów nie tylko za pomocą chemioterapii, ale także radioterapii oraz terapii fotodynamicznej lub termicznej.

1.1. Wykorzystanie nanocząsteczek w chemioterapii

Poważnym problemem tradycyjnej chemioterapii jest mała efektywność w dystrybucji leków specyficznym do komórek nowotworowych [9,15,16]. Ponadto niewystarczająca rozpuszczalność wielu leków w wodzie, słaba biodostępność i niski terapeutyczny wskaźnik przyczyniają się do ich małej skuteczności [8, 9]. Inną przyczyną niepowodzeń klasycznej terapii jest rosnąca oporność na cytostatyki, spowodowana wytworzeniem przez komórki nowotworowe mechanizmów ochronnych [8, 9]. Za jedną z głównych przyczyn lekooporności możemy uznać zmniejszony transport leku do komórki oraz zwiększony wyrzut leku z komórki, głównie poprzez transportery ABC wiążące ATP (*ATP-binding cassette transporters, ABC*) [17–19]. Jednym z przykładów białek odpowiedzialnych za oporność wielolekową jest glikoproteina P (P-gp/ABC1), która należy do rodziny transporterów ABC, biorących udział w zmniejszeniu wewnątrzkomórkowego stężenia leków. Opłaszczenie nanocząsteczek specyficznymi ligandami powoduje bezpośrednie ich połączenie z odpo-

wiednim receptorem na komórkach guza i przenikanie leku do wnętrza komórek, co umożliwia ominięcie wzrastającego zjawiska oporności na czynniki terapeutyczne [20].

Zastosowanie nanocząsteczek jako nośników związków terapeutycznych oraz wykorzystanie ich w celowanej terapii daje możliwość poprawy skuteczności leczenia i znacznej redukcji działań ubocznych.

1.1.1. Nanocząsteczki jako nośniki leków

Jednym ze sposobów, który może doprowadzić do poprawienia przeciwnowotworowego działania leków, jest opracowanie nośników umożliwiających dostarczenie leku w skutecznym stężeniu do chorobowo zmienionych miejsc bez wpływu na komórki prawidłowe [21]. Do nanonośników możemy zaliczyć nanocząsteczki polimerowe, liposomy, micelle polimeryczne, dendrymery oraz nanorurki.

Nanocząsteczki polimerowe

Polimerowe nanocząsteczki umożliwiają zwiększenie wydajności transportu dotychczas stosowanych leków, białek i DNA do docelowych komórek, co zmniejsza toksyczne działanie związków. Ich rozmiar w skali nano pozwala na skuteczne przenikanie przez błony komórkowe oraz zwiększa ich stabilność, co umożliwia dłuższe pozostanie leku w krążeniu [22]. Kilka biodegradacyjnych polimerów wykorzystuje się obecnie do przygotowania nanocząsteczek w celu efektywnego dostarczania leków. Szybkość uwalniania leków podczas degradacji tych polimerów może być kontrolowana poprzez ich masę molekularną, kompozycję i mikrostrukturę [23]. Na przestrzeni lat zostały zbadane różne naturalne, jak i syntetyczne polimery.

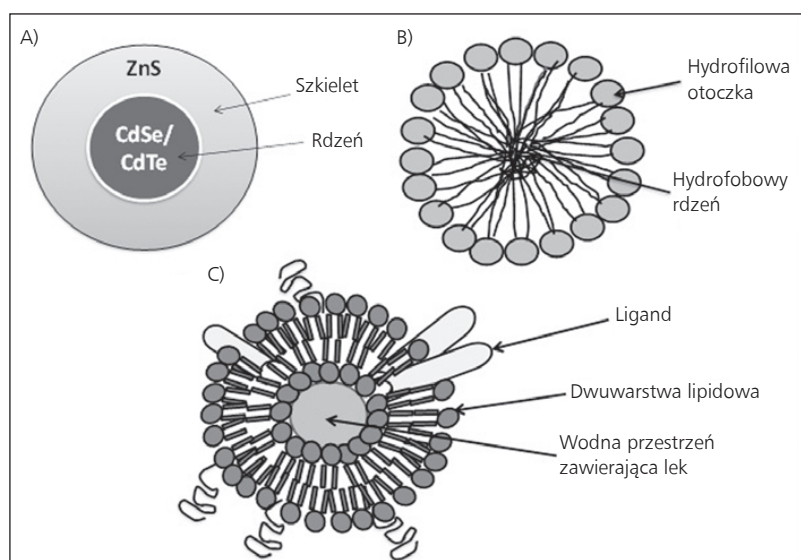
Do głównych syntetycznych polimerów należą: kwas polimlekowy (*poly-lactic acid, PLA*), kwas poliglikolowy (*poly-L-glycolic acid, PGA*), kwas polimlekowo-glikolowy (*poly-lactic glycolic acid, PLGA*), kwas poliglutaminowy (*poly-L-glutamic acid*) oraz N-(2-hydroksypropylo)-metakryloamid (*N-(2-hydroksypropyl)-methacrylamide, HPMA*). Przykładem koniugatu polimer-lek jest połączenie paklitakselu z polimerem kwasu glutaminowego, który jest stosowany w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuc oraz raka jajnika [24, 25]. Polimery mogą być również wykorzystane do opłaszczania różnych nanocząsteczek m.in. liposomów, dendrymerów, nieorganicznych nanocząsteczek [4]. Przykładem jest hydrofilowy polimer, glikol polietylenowy (*polyethylene glycol* — PEG). PEGylovane cząsteczki charakteryzują się lepszą koloidalną stabilnością [26]. Takie opłaszczenie chroni także nanocząsteczki przed ich usunięciem przez układ siateczkowo-śródbłonkowy (*reticulo-endothelial system, RES*) oraz umożliwia przekroczenie biologicznych barier takich jak bariera krew-mózg w celu dostarczenia leków do centralnego układu nerwowego [27, 28]. Ponadto dodanie PEG przedłuża okres półtrwania cząsteczki i czas krążenia w krwioobiegu [4, 28]. Oprócz PEG stosuje się także inne hydrofilowe polimery

do opłaszczania nanocząsteczek, do których należą hydrożel (*polyacrylamide*), dekstran i polisorbit [28].

Do naturalnych polimerowych nośników należą albumina (*albumin*), heparyna (*heparin*), chitozan (*chitosan*). Ostatnio udało się stworzyć połączenie albuminy z paklitaksellem (*albumin-bound paclitaxel*) — abraxane. Lek ten został dopuszczony do leczenia nowotworów piersi w 2005 roku w USA. Zakapsułowanie paklitakselu w cząsteczkach albuminy wyklucza konieczność stosowania toksycznych rozpuszczalników tego leku [29–31]. Ponadto albumina ułatwia przenikanie leku przez komórki śródbłonka, prawdopodobnie za pomocą receptora albuminy gp-60 [32]. Oprócz zastosowania w leczeniu nowotworów piersi, abraxan jest badany w celu wykorzystania go do leczenia innych nowotworów, np. niedrobnokomórkowego raka płuca (II faza badań klinicznych) [33] oraz zaawansowanych niehematologicznych nowotworów (I faza badań klinicznych) [34]. Polimerowe nanokoniugaty należą do wysoce innowacyjnych technologii w nanomedycynie. Mogą one zawierać liczne funkcjonalne grupy, które są zdolne do kowalencyjnego przyłączania się do różnorodnych, biochemicznie aktywnych grup, kierujących nanokoniugat specyficznie do komórek nowotworowych, gdzie uwalniają optymalne stężenie związku terapeutycznego, co zwiększa skuteczność terapii [35].

Liposomy

Nanocząsteczki zbudowane z lipidów, tzw. liposomy, są kolejnym rodzajem nanocząsteczek wykorzystywanych jako nośniki leków. Liposomy stały się uniwersalnym narzędziem w biologii, biochemii i farmacji z powodu olbrzymiej różnorodności ich struktury i budowy [36–40]. Są one koloidalnymi strukturami o sferycznym kształcie. Zbudowane są z dwuwarstwy lipidowej, otaczającej centralną wodną przestrzeń, w której zlokalizowany jest lek [4] (ryc. 1). Rozwój badań nad liposomami doprowadził do powstania nanocząsteczek na bazie stałych lipidów (*solid lipid nanoparticle, SLN*) [41, 42]. Stanowią one skuteczną i nietoksyczną alternatywę dla lipofilowych, koloidalnych nośników leków, przygotowanych z fizjologicznych lipidów oraz cząsteczek lipidowych, wykorzystywanych jako farmaceutyczne substancje pomocnicze [42, 43]. Sugeruje się, że jednym z mechanizmów uwalniających terapię z liposomów jest rozpad liposomu pod wpływem działania niskiego pH mikrośrodowiska guzów. Przykładem leków, które są transportowane z wykorzystaniem liposomów, są antracykliny: doksorubicyna (*doxorubicin; Doxil*) i daunorubicyna (*daunorubicin, DaunoXome*). Jako jedne z niewielu leków, zostały zatwierdzone przez FDA do leczenia nowotworów piersi, jajnika, szpiczaka mnogiego oraz mięsaka Kaposiego [8, 21, 44, 45]. Doksorubicyna — mimo skuteczności w leczeniu nowotworów wykazuje znaczną kardiotoxycność, co ogranicza dawkę leku. Zakapsułowanie doksorubicyny w anionowych liposomach podwyższyło jej akumulację



Rycina 1. Przykłady różnych form nanocząsteczek. **A)** Kropki kwantowe to fluorescencyjne czynniki kontrastujące. Połączenie kropek kwantowych z różnymi ligandami oraz ze związkami terapeutycznymi daje możliwość jednoczesnego obrazowania nowotworów i ich celowanej terapii **B)** Micele polimerowe to amfifilowe kuliste struktury zbudowane z hydrofobowego rdzenia i hydrofilowej otoczki, **C)** Liposomy zbudowane są z dwuwarstwy lipidowej; w centrum znajduje się wodna przestrzeń zawierająca cząsteczki leku. Mogą być one otoczone polimerem, co zwiększa biodostępność i farmakokinetykę

w guzach, co zwiększyło aktywność przeciwnowotworową przy jednoczesnym zmniejszeniu efektów ubocznych oraz poprawiło jej właściwości farmakokinetyczne w porównaniu z wolną formą daunorubicyny [46-48]. Wadą klasycznych liposomów jest to, że są często wychwytywane przez układ siateczkowo-śródbłonkowy. Dlatego liposomy będące nośnikami doksorubicyny zostały dodatkowo opłaszczane glikolem polietylenowym PEG (PEG-DOX) w celu zwiększenia okresu półtrwania koniugatu we krwi [49,50]. Zainteresowanie wzbudziły także połączenia transferyny z liposomami, w których umieszczono doksorubicynę i verapaminę. Liposomy opłaszczane transferyną wykazują większą cytotoksyczność w stosunku do komórek nowotworowych, które mają nadekspresję receptora dla transferyny, w porównaniu z wolnym lekiem [51, 52].

Micele polimerowe

Innym rodzajem nanosystemów dostarczania leków są micele polimerowe (*polymeric micelles*). Micele to amfifilowe kuliste struktury, zbudowane z hydrofobowego rdzenia i hydrofilowej otoczki (ryc. 1). Hydrofobowy rdzeń działa jako rezerwuuar leków, podczas gdy hydrofilowy szkielet stabilizuje rdzeń i powoduje, że polimery są rozpuszczalne w wodzie [53]. Lek może być zapakowany wewnątrz polimeru na dwa sposoby: poprzez fizyczną enkapsulację lub chemiczne kowalencyjne połączenie [54, 55]. Polimeryczne micele charakteryzują się wysoką stabilnością *in vitro* i *in vivo*, znaczną biokompatybilnością oraz możliwością rozpuszczania słabo rozpuszczalnych farmaceutyków [56]. Pierwszym powstałym

przykładem miceli polimerowych jest paklitaksel połączony z PEG (PEG-poly(D,L-lactide)-paclitaxel), Genexol-PM. Pierwsza faza badań klinicznych oraz badania farmakokinetyczne były przeprowadzone u pacjentów z zaawansowanymi, opornymi na leczenie nowotworami, m.in. rakiem płuca, piersi, jajnika i jelita grubego [57].

Dendrymery

Jako nośniki cząsteczek terapeutycznych wykorzystywane są również dendrymery, które podlegają obecnie szczegółowym i intensywnym badaniom. Dendrymery są złożonymi, wysoce rozgałęzionymi strukturami. Zbudowane są z wielofunkcyjnego rdzenia, od którego odchodzą jednostki rozgałęziające, na końcu których znajdują się wolne grupy funkcyjne. Budowa chemiczna rdzenia, rozgałęzień oraz powierzchni funkcyjnych grup determinuje rozmiar, kształt oraz reaktywność dendrymerów [58]. Powierzchnia dendrymerów może być łatwo modyfikowana, między innymi możliwe jest przyłączenie ligandów, które specyficznie łączą się z receptorami w tkankach guzów co umożliwia dostarczenie leków wprost do miejsc zmienionych chorobowo [59]. Dzięki biokompatybilności dendrymerów są one wykorzystywane jako systemy transportujące leki takie jak cisplatina i doksorubicyna [59].

Nanorurki węglowe

Kolejnym interesującym narzędziem wykorzystywanym do transportu związków biologicznie czynnych w określone miejsca są nanorurki węglowe (*carbon nanotubes, CNTs*). Są

one syntetyzowane poprzez zwinienie warstw grafenowych w cylindryczne struktury. Pod względem strukturalnym klasyfikuje się je na nanorurki jednowarstwowe (*single-walled nano tubes, SWNTs*) i wielowarstwowe (*multi-walled nanotubes, MWNTs*) [60–62]. Nanorurki charakteryzują się unikalną strukturą o interesujących właściwościach optycznych, chemicznych, fizycznych oraz mechanicznych. Jedną z zalet nanorurek jest ich zdolność do przenikania przez błonę komórkową oraz przenoszenia małych cząstek lub biologicznych makrocząstek takich jak plazmidy, siRNA lub białka do wnętrza komórek [63–65]. Małe cząsteczki leków mogą być połączone z nanorurkami zarówno za pośrednictwem wiązań kowalencyjnych (np. paklitaksel), jak i niekowalencyjnej absorpcji (np. dokсорubicyna) [66]. Ukierunkowany transport leków *in vivo* przez nanorurki był po raz pierwszy opisany przez Liu w 2008 roku [67]. W pracy tej wykazano, że połączenie paklitakselu z rozgałęzionymi łańcuchami PEG zlokalizowanymi na powierzchni nanorurek węglowych (SWNT-PTX) znacznie wydłuża czas krążenia kompleksu w krwioobieg, co przyczynia się do zwiększenia akumulacji leku w obszarze guza [67].

1.1.2. Wykorzystanie nanocząsteczek w celowanej terapii

Celowana terapia w leczeniu nowotworów staje się coraz szybciej rozwijającym się obszarem zarówno w przedklinicznych, jak i klinicznych badaniach [21]. Specyficzne dostarczanie leków do komórek nowotworowych przy użyciu nanocząsteczek może odbywać się za pomocą uwalniania terapeutyków z nanocząsteczek pozakomórkowo do mikrośrodowiska guza (transport bierny) lub za pomocą wewnątrzkomórkowego uwalniania leków na drodze endocytozy (transport aktywny) [68].

Transport bierny

Większość nanocząsteczek jest zdolna do transportu leków do komórek nowotworowych w sposób bierny, poprzez selektywne wykorzystanie zwiększonej przepuszczalności i retencji naczyń guza (*enhanced permeation and retention effect, EPR*) [12, 69]. Jest to związane z nieefektywnym procesem angiogenezy, co prowadzi do powstania nieprawidłowych i nieszczelnych naczyń krwionośnych w obrębie guza. Dzięki temu nanocząsteczki mogą z łatwością przeniknąć z krążenia przez śródbłonek naczyń krwionośnych guza do docelowych komórek nowotworowych, co przyczynia się do zwiększenia biodostępności i skuteczności leczenia [12]. Transport pasywny jest także związany ze wspomnianym odmiennym mikrośrodowiskiem guzów, które charakteryzuje się obniżonym pH. Cecha ta wykorzystywana jest do tworzenia liposomów stabilnych w fizjologicznym pH 7,4. Liposomy ulegają degradacji w niskim pH komórek nowotworowych i uwalniają zawarte w nich leki preferencyjne w obszarze guza [8, 50].

Transport aktywny

Oplaszczanie nanocząsteczek różnymi ligandami, które rozpoznają i łączą się ze specyficznym receptorem, antygenem lub charakterystycznymi cząsteczkami znajdującymi się na powierzchni komórek nowotworowych, pozwala na zwiększenie efektywności celowanego podania leku [8]. Z tego względu identyfikacja biomarkerów nowotworowych ma istotne znaczenie w konstrukcji nanocząsteczek do celowanej terapii [2]. Nanocząsteczki oplaszczone ligandem łączą się ze specyficznym receptorem i wchodzi do wnętrza komórek nowotworowych na drodze endocytozy, czyli transportu aktywnego. Tak zaprojektowane nanocząsteczki dostarczają chemioterapeutyki specyficznym do komórek nowotworowych w efektywnym stężeniu, co zwiększa skuteczność terapii i eliminuje cytotoksyczność w stosunku do komórek prawidłowych [70]. Przykładem zastosowania selektywnych ligandów są nanocząsteczki połączone z kwasem foliowym (*folic acid, FA*). Badania pokazały, że wiele nowotworów, jak np. rak jajnika, endometrium, piersi, jelita grubego, płuca, nerek, pęcherza i trzustki, wykazuje nadekspresję receptorów dla kwasu foliowego, FRs (*folate receptors, FRs*) [68, 71, 72]. Pokazano selektywną cytotoksyczność nanokonjugatu kwasu foliowego (FA) i metotreksatu (MTX) w stosunku do komórek z nadekspresją FR α [73]. Dodatkowo selektywna cytotoksyczność tego nanokompleksu była osiągnięta za pomocą mechanizmu aktywnie uwalniającego lek, dzięki przecięciu tetrapeptydu w endosomach, który łączy MTX z nanocząsteczką [73]. Możliwe jest także sprzężenie na powierzchni nanocząstek specyficznych przeciwciał, które kierują cały kompleks w docelowe miejsce. Przykładem są nanocząsteczki oplaszczone przeciwciałami, które rozpoznają receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (*human epidermal growth factor 2, HER-2*), receptor dla transferyny lub receptor swoistego antygenu gruczołu krokowego (*prostate specific antigen receptor*) [74–77]. Innym białkiem, którego potencjał jest obecnie badany w celowanej terapii, jest urokinazowy aktywator plazminogenu (*urokinase plasminogen activator, uPA*), ligand dla receptora urokinazowego aktywatora plazminogenu (*urokinase plasminogen activator receptor, uPAR*) [78]. Komórki raka piersi i jelita grubego cechują się zwiększoną ekspresją tego receptora [79]. Przykładem ligandu peptydowego jest peptyd RGD, który ma wysokie powinowactwo do $\alpha_v\beta_3$ integrzyn, których ekspresja jest wzmożona w naczyniach guza [80, 81]. Trzeba podkreślić, że dzięki połączeniu nanocząsteczek z ligandami, które umożliwiają specyficzną endocytozę leków, możliwe jest również ominięcie wzrastającego zjawiska oporności na czynniki terapeutyczne [8].

1.2. Wykorzystanie nanocząsteczek w radioterapii

Radioterapia wykorzystuje wysokie dawki promieniowania jonizującego w celu zabicia komórek nowotworowych. W obecnej praktyce onkologicznej około połowa pacjentów

z nowotworami jest poddawana leczeniu za pomocą samej radioterapii lub w skojarzeniu jej z innymi metodami. Wadą konwencjonalnej radioterapii jest brak specyficzności do komórek nowotworowych, co powoduje uszkodzenie również tkanek prawidłowych w obszarze napromieniowania [82]. Ponadto hipoksyjne mikrośrodowisko guzów obniża skuteczność radioterapii w wyniku zmniejszonej produkcji wolnych rodników tlenowych [83]. W celu zwiększenia skuteczności radioterapii, przy jednoczesnym zmniejszeniu działań ubocznych w stosunku do komórek prawidłowych, stosuje się radiouczulacze, które zwiększają produkcję wolnych rodników w komórkach nowotworowych. W zastosowaniach klinicznych radiouczulacz powinien być łatwo dostępny i stosunkowo szybko usuwany z organizmu, powinien zwiększać współczynnik terapeutyczny i nie być toksyczny. Przykładem takich uwalniaczy są nanocząsteczki złota. Częsteczki te są powszechnie badane w szerokim zakresie biofarmaceutycznych zastosowań ze względu na ich biokompatybilność i łatwe połączenie z biomolekułami [84, 85]. Ostatnie osiągnięcia w nanotechnologii wykorzystuje się również w celu dostarczenia radioizotopów selektywnie do komórek nowotworowych. Jednorazowe leczenie nanocząsteczkami z radioizotopem ^{90}Y opłaszczonymi przeciwciałem rozpoznającym receptor Flk-1, wykazało zmniejszenie wzrostu guzów w modelu mysim [86]. Ostatnio również zostały przeprowadzone badania kliniczne w celu oceny skuteczności radioterapii przy użyciu nanocząsteczek zawierających ^{90}Y i Zevalin u pacjentów z chłoniakiem [87]. Innym przykładem stosowanym w celowanej radioterapii są nanocząsteczki zawierające ^{64}Cu opłaszczone kwasem foliowym [88].

1.3. Wykorzystanie nanocząsteczek w terapii fotodynamicznej

Terapia fotodynamiczna (*photodynamic therapy, PDT*) jest alternatywą dla obecnej chemioterapii, ponieważ ma znikome ryzyko powikłań oraz nie jest podatna na rozwój oporności. Metoda ta bazuje na podaniu leku fotouczulającego, który ulega aktywacji pod wpływem określonej długości fali i następnie indukuje uwolnienie reaktywnych form tlenu, niszczących nowotworowe komórki. Niezbędne jest dokładne celowanie w komórki patologiczne, ponieważ tlen singletowy, generowany podczas terapii fotodynamicznej, jest wysoce reaktywny, bardzo szybko reaguje z cząsteczkami komórkowymi, prowadząc do ich uszkodzenia i śmierci komórek [89, 90]. Problem ten rozwiązują polimerowe nanocząsteczki, które dostarczają fotouczulaczy specyficznie do komórek guzów za pomocą przyłączonych ligandów. Dodatkową zaletą PDT, odróżniającą ją od chemioterapii i radioterapii, jest to, że może być stosowana wielokrotnie bez ryzyka immunosupresji [91, 92]. Peng i wsp. stworzyli wrażliwe na pH nanocząsteczki jako potencjalne nośniki fotouczulaczy do obszaru guza w celu wykorzystania w me-

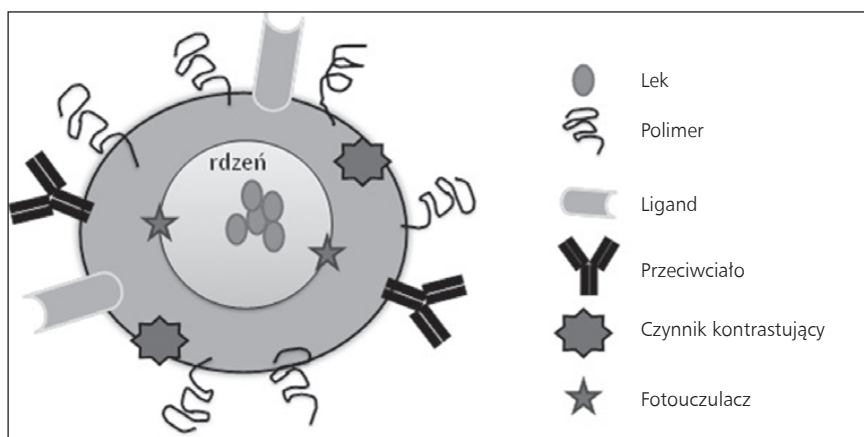
todzie PDT [91]. Czas życia i odległość dyfuzji tlenu singletowego są ograniczone, dlatego Zhu i wsp. [90] stworzyli nowy molekularny kompleks, jakim jest aptamer ssDNA z nanorurkami węglowymi, zdolny do kontrolowania i regulowania poziomu uwalniania tlenu singletowego [93]. Innym przykładem zastosowania nanocząsteczek w terapii fotodynamicznej są dendrymery [94].

1.4. Wykorzystanie nanocząsteczek w terapii hipertermicznej

Termoterapia może być formą hipertermii, gdzie wzrost temperatury w komórkach w zakresie 42–46°C powoduje uwrażliwienie komórek na tradycyjną terapię, lub formą termoablacji (51–55°C), gdzie samo ciepło powoduje śmierć komórek. Magnetyczne, nieorganiczne nanocząsteczki są wykorzystywane jako źródło energii cieplnej w termoterapii przeciwnowotworowej [95]. Na uwagę zasługują superparamagnetyczne nanocząsteczki tlenku żelaza (*superparamagnetic iron oxide, SPIO*), których moment magnetyczny może się zmieniać pod wpływem energii termalnej otoczenia. Superparamagnetyczny tlenek żelaza stanowi rdzeń magnetycznych nanocząstek, które posiadają polimerową otoczkę [28]. Nanocząsteczki SPIO opłaszczone ligandami mogą być wykorzystane w celowanej terapii do niszczenia komórek nowotworów przy użyciu hipertermii magnetycznej [96]. Innym przykładem wykorzystania nanocząsteczek w terapii hipertermicznej są nanocząsteczki złota w połączeniu z dendrymerami [97]. Ablacja termiczna jest obecnie przede wszystkim stosowana do niszczenia złośliwych zmian wątroby niekwalifikujących się do resekcji. Nanotechnologia stwarza dodatkowe możliwości dla rozwoju nieinwazyjnej odmiany ablacji. Wykazano, że cząsteczki nanozłota zastosowane w termoablacji przezskórnej zwiększają zniszczenie guzów zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* [98].

2. Wykorzystanie nanocząsteczek w diagnostyce nowotworów

Stale postępy w badaniach nad ulepszeniem technik obrazowania zaowocowały pojawieniem się dziedziny zwanej molekularnym obrazowaniem [99]. Nanocząsteczki mają ogromne znaczenie w diagnostyce nowotworów jako kontrastowe czynniki. Obrazowanie przy pomocy nanocząsteczek jest bardziej efektywne niż przy wykorzystaniu standardowych czynników kontrastujących dzięki licznym ich zaletom, takim jak: mały rozmiar, właściwości optyczne oraz zdolność akumulacji w obszarze guza dzięki efektowi EPR [100, 101]. Ponadto zastosowanie nanocząsteczek kontrastowych opłaszczonych ligandami umożliwia detekcję zmian patologicznych na poziomie komórkowym, co pozwala na wcześniejsze wykrycie nowotworów [58]. Wykorzystanie nanocząsteczek w obrazowaniu guzów i ich przerzutów pozwala także na monitorowanie skuteczności leczenia. Każdy system obrazowania ma swoje zalety i ogra-



Rycina 2. Schemat wielofunkcyjnej nanocząsteczki. Postępy w rozwoju nanotechnologii umożliwiają syntezę wielofunkcyjnych nanocząsteczek, które zawierają zarówno czynniki terapeutyczne, jak i kontrastujące. Ponadto powierzchnia tych nanocząsteczek może być opłaszczona specyficznymi ligandami/przeciwciałami oraz polimerami, co umożliwia celowaną terapię i zwiększenie biodostępności terapeutyków. Wielofunkcyjne nanocząsteczki są wykorzystywane jednocześnie do detekcji nowotworów i ich leczenia oraz umożliwiają monitorowanie skuteczności terapii

niczenia, np. rezonans magnetyczny wykazuje doskonałą przestrzenną rozdzielczość, ale jest mniej czuły niż obrazowanie fluorescencyjne. Nanotechnologia pozwala również na konstruowanie nanocząsteczek z możliwością ich wykorzystania do obrazowania za pomocą dwóch lub większej ilości technik jednocześnie (*bimodal or multimodal imaging*), co omija ograniczenia pojedynczej metody [102]. Istotne znaczenie mają wielofunkcyjne nanocząsteczki, które mogą być połączone z czynnikami diagnostycznymi i mogą zawierać związki terapeutyczne, dając możliwość jednoczesnego obrazowania guzów i ich leczenia [36]. Zastosowanie nanocząsteczek w diagnostyce obrazowej zwiększa prawdopodobieństwo całkowitego wyleczenia pacjentów w wyniku wczesnej detekcji nowotworów i jednoczesnej celowanej terapii z możliwością monitorowania postępów leczenia.

2.1. Fluorescencyjne obrazowania guzów

Kropki kwantowe

W ostatnich latach badacze zwrócili szczególną uwagę na małe koloidalne półprzewodnikowe nanokryształy, kropki kwantowe (*quantum dots, QD*). Kropki kwantowe są nową klasą znaczników fluorescencyjnych stosowanych w biologii, medycynie i farmacji, których średnica mieści się w granicach od 2 do 8 nm [103] (ryc. 1). Ze względu na nanometrowy rozmiar, dłuższy okres trwania fluorescencji, lepszą fotostabilność, jak również wąskie widmo emisji, kropki kwantowe są znacznie bardziej stabilnymi i precyzyjnymi znacznikami fluorescencyjnymi niż stosowane dotychczas w diagnostyce medycznej barwniki organiczne [104]. Ponadto zaletą kropek kwantowych jest to, że mogą być one używane do obrazowania kilku celów molekularnych jednocześnie, co ma istotne znaczenie w diagnostyce nowotworów,

w których powstanie zaangażowane są liczne geny i białka [105]. Mogą być one wykorzystane w testach diagnostycznych *in vitro*, gdzie umożliwiają detekcję wielu biomarkerów nowotworowych jednocześnie, np. w surowicy [106]. W zakresie badań biologicznych najczęściej stosowane są nanocząsteczki selenku kadmu (CdSe), tellurku kadmu (CdTe), fosforu indu (InP) oraz arsenu indu (InAs). Te nieorganiczno-organiczne połączenia nanomateriałów są niesamowicie efektywnymi czynnikami w diagnostyce nowotworów *in vivo*. Niewielki rozmiar kropek kwantowych umożliwia ich swobodny dostęp do krążenia ogólnego i łączenie z cząstkami transportowymi [51, 107–109]. Modifikowane glikolem polietylenowym kropki kwantowe (PEG), w celu ich ochrony przed opsonizacją przez system fagocytarny, są używane do obrazowania układu limfatycznego [28].

Kropki kwantowe stanowią podstawę także do tworzenia wielofunkcyjnych nanocząsteczek (ryc. 2). Możliwe jest łączenie kropek kwantowych z przeciwciałami, które specyficznie rozpoznają antygen na komórkach nowotworowych [96]. Powierzchnia kropek kwantowych pozwala także na przyłączenie cząsteczek o aktywności terapeutycznej, umożliwiając jednocześnie transport leku, jak i obrazowanie *in vivo* [110]. Rozwój kropek kwantowych należy do obiecujących nowych narzędzi w obrazowaniu molekularnym *in vivo*.

2.2. Zastosowanie nanocząsteczek w obrazowaniu rezonansu magnetycznego

Z klinicznego punktu widzenia obrazowanie rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance imaging, MRI*) jest jednym z najważniejszych nieinwazyjnych narzędzi do diagnostyki i monitorowania chorób [111, 112]. MRI charakteryzuje świetna przestrzenna rozdzielczość, ale jest on mniej czuły niż obrazowanie fluorescencyjne. W ostatnich latach widoczny jest znaczny postęp w rozwoju systemów nanoczą-

steczkowych, pozwalających na poprawę obrazowania i diagnostyki nowotworów za pomocą MRI [111–113]. Poprzez zastosowanie nanocząsteczek w MRI uzyskuje się większy kontrast, co pozwala na lepsze odróżnienie patologicznie zmienionych tkanek od tkanek zdrowych. Nanotechnologię w tym aspekcie reprezentują nieorganiczne nanocząsteczki tlenku żelaza, złota, kobaltu lub nanocząsteczki inkorporowane gadolinem.

Nanocząsteczki tlenku żelaza

Nanocząsteczki tlenku żelaza (*iron oxide nanoparticles, ION*) są jednymi z najczęściej stosowanych w MRI rodzajów nieorganicznych magnetycznych nanocząsteczek [114]. Główną zaletą magnetycznych nanocząsteczek jest ich zdolność do wizualizacji za pomocą rezonansu magnetycznego. Dodatkowo nanocząsteczki tlenku żelaza sprzężone ze związkiem farmaceutycznym mogą być kierowane w miejsca docelowe przy użyciu zewnętrznego pola magnetycznego. Cechuje je długi czas krążenia we krwi, niska toksyczność oraz biodegradowalność [115]. Przykładem superparamagnetycznych nanocząsteczek tlenku żelaza (*SPIO*), zaakceptowanych do użytku klinicznego, są: feromoxsil (300 nm), ferumoxide (80–150 nm) i ferumoxtran (20–40 nm) [116, 117]. Mogą one być internalizowane przez różne komórki, co wykorzystuje się do znakowania komórek *in vitro*. Wstrzyknięcie dożylnie myszom pierwotnych komórek endotelialnych, znakowanych SPIO w połączeniu z dextranem, umożliwiło monitorowanie migracji tych komórek oraz wizualizację ich wbudowywania do naczyń guza za pomocą MRI [118–120]. Innym przykładem połączenia SPIO z lekiem są koniugaty SPIO z metotreksatem [121] oraz doksorubicyną [122]. Ponadto magnetyczne nanocząstki używane do dostarczania siRNA mogą być jednocześnie wykorzystane do obrazowania ich akumulacji w komórkach nowotworowych [115, 123].

Nanocząsteczki gadolinu

Powszechnie używane czynniki kontrastujące wykorzystywane do obrazowania za pomocą rezonansu magnetycznego bazują na cząsteczce gadolinu (Gd). Zwiększają one kontrast, ale mają relatywnie niską czułość. Wykorzystanie nanotechnologii umożliwia połączenie gadolinu z nanocząsteczkami, co zwiększa ich retencję w obszarze guzów i tym samym — czułość MRI. Swanson i wsp. syntetyzowali dendrymer G5 PAMAM zawierający $GdCl_3$ opłaszczony kwasem foliowym w celu zwiększenia selektywności w stosunku do komórek nowotworowych [124]. W celu obrazowania guzów mózgu skonstruowano dendrymer PAMAM o przekroju 11,7 nm połączony z Gd i znacznikiem fluorescencyjnym, który jest w stanie przejść przez barierę krew-mózg i wykazuje długi okres półtrwania [125].

2.3. Pozytonowa emisyjna tomografia

Obrazowanie zmian patologicznych przy użyciu pozytonowej emisyjnej tomografii (*positron emission tomography, PET*) cechuje się bardzo dużą czułością. Nanotechnologia daje możliwości konstrukcji nanocząsteczek, do których przyłączona jest duża liczba atomów ^{18}F , umożliwiając detekcję różnych nanostruktur za pomocą PET. Ponieważ ta metoda jest tysiąc razy czulsza niż MRI, umożliwia ona wykrycie zmian nowotworowych w bardzo wczesnym stadium oraz znacznie obniża stosowaną dawkę nanocząsteczek w stosunku do dawek wymaganych przy użyciu MRI [126]. Ogromnym osiągnięciem w nanotechnologii jest synteza wielofunkcyjnych nanocząsteczek wykorzystywanych w celu obrazowania za pomocą dwóch metod PET i MRI, co zwiększa czułość i jakość wizualizacji zmian nowotworowych (ryc. 2). Przykładem są magnetyczne nanocząsteczki tlenku żelaza opłaszczone ligandem-RGD dla celowanej terapii i połączone z atomami ^{18}F [127]. Na uwagę zasługują nanocząsteczki zawierające ^{64}Cu opłaszczone kwasem foliowym, które jednocześnie wykorzystuje się do celowanej radioterapii i monitorowania leczenia za pomocą PET [88].

Podsumowanie

Poszukiwanie nowych leków i modyfikacja tych obecnych charakteryzujących się efektywnym potencjałem terapeutycznym, jak również poszukiwanie metod ich skutecznego dostarczania specyficznie do komórek nowotworowych jest przyszłością i wyzwaniem współczesnej onkologii. Rozwój terapii celowanych należy do głównych i obiecujących kierunków badań, dzięki czemu możliwa jest poprawa skuteczności leczenia oraz zmniejszenie działań niepożądanych. Aby sprostać tym wymaganiom, obecnie terapia przeciwnowotworowa i diagnostyka koncentrują się na wykorzystaniu osiągnięć nanotechnologii. Wykorzystanie nanocząsteczek w onkologii daje ogromną możliwość pokonania wad standardowej terapii oraz pozwala na wczesną detekcję zmian nowotworowych i monitorowanie skuteczności leczenia.

Mgr biologii Paulina Olszewska

Zakład Chemii Farmaceutycznej i Analizy Leków
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Muszyńskiego 1, 90–151 Łódź
e-mail: paulina.olszewska@umed.lodz.pl

Otrzymano: 23 października 2012 r.

Przyjęto do druku: 29 stycznia 2013 r.

Piśmiennictwo

1. Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 161–171.
2. Nie S, Xing Y, Kim GJ, Simons JW. Nanotechnology applications in cancer. *Annu Rev Biomed Eng* 2007; 9: 257–288.

3. Wang MD, Shin DM, Simons JW, Nie S. Nanotechnology for targeted cancer therapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007; 7: 833–837.
4. Wang M, Thanou M. Targeting nanoparticles to cancer. *Pharmacolo Res* 2010; 62: 90–99.
5. Ahmed N, Fessi H, Elaissari A. Theranostic applications of nanoparticles in cancer. *Drug Discov Today* 2012; 17: 928–934.
6. Didkowska J, Wojciechowska U, Zatoński W. *Nowotwory złośliwe w Polsce w 2009 roku*. Warszawa: Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii Instytut im.M Skłodowskiej Curie, 2011.
7. Singhal S, Nie S, Wang MD. Nanotechnology applications in surgical oncology. *Annu Rev Med* 2010; 61: 359–373.
8. Cho KJ, Wang X, Nie SM i wsp. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1310–1316.
9. Parveen, S, Sahoo, SK. Polymeric nanoparticles for cancer therapy. *J Drug Target* 2008; 16: 108–123.
10. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pauyssegur J. Hypoxia and cancer. *J Mol Med* 2007; 85: 1301–1307.
11. Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 51.
12. Maeda H, Wu J, Sawa T i wsp. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Control Release* 2000; 65: 271–284.
13. Allen TM. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 750–763.
14. Zolnik BS, Sadrieh N. Regulatory perspective on the importance of ADME assessment of nanoscale material containing drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 422–427.
15. Das M, Mohnanty C, Sahoo SK. Ligand-based targeted therapy for cancer tissue. *Expert Opin Drug Deliv* 2009; 6: 285–304.
16. Parveen S, Sahoo SK. Nanomedicine: clinical applications of polyethylene glycol conjugated proteins and drugs. *Clin Pharmacokinet* 2006; 45: 965–988.
17. Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA i wsp. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 219–234.
18. Broxterman HJ, Gotink KJ, Verheul HM. Understanding the causes of multidrug resistance in cancer: a comparison of doxorubicin and sunitinib. *Drug Resist Update* 2009; 12: 114–126.
19. Qiao L, Wong BC Targeting apoptosis as an approach for gastrointestinal cancer therapy. *Drug Resist Update* 2009; 12: 55–64.
20. Larsen AK, Escargueil AE, Skladanowski A. Resistance mechanisms associated with altered intracellular distribution of anticancer agents. *Pharmacol Ther* 2000; 85: 217–229.
21. Misra R, Acharya S, Shoo SK. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug Discovery Today* 2010; 19/20: 842–850.
22. Peer D, Karp JM, Hong S i wsp. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotechnol* 2007; 2: 761–770.
23. Duncan R. The dawning era of polymer therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 347–360. *Resist Update* 2009; 12: 114–126.
24. Albain KS, Belani CP, Bonomi P i wsp. PIONEER: a phase III randomized trial of paclitaxel poliglumex versus paclitaxel in chemotherapy-naïve women with advanced-stage non-small-cell lung cancer and performance status of 2. *Clin Lung Cancer* 2006; 7: 417–419.
25. Sabbatini P, Aghajanian C, Dizon D i wsp. Phase II study of CT-2103 in patients with recurrent epithelial ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal carcinoma. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4523–4531.
26. Papahadjopoulos D, Allen TM, Gabizon A i wsp. Sterically stabilized liposomes: improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 11460–11464.
27. Lockman PR, Mumper RJ, Khan MA i wsp. Nanoparticle technology for drug delivery across the blood–brain barrier. *Drug Dev Ind Pharm* 2002; 28: 1–13.
28. Koo OM, Rubinstein I, Onyuksel H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 2005; 1: 193–212.
29. Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N i wsp. Phase III Trial of Nanoparticle Albumin-Bound Paclitaxel Compared With Polyethylated Castor Oil–Based Paclitaxel in Women With Breast Cancer. *J Oncol* 2005; 23: 7794–7803.
30. Damascelli B, Cantu G, Mattavelli F i wsp. Intraarterial chemotherapy with polyoxyethylated castor oil free paclitaxel, incorporated in albumin nanoparticles (ABI-007): phase II study of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck and anal canal: preliminary evidence of clinical activity. *Cancer* 2001; 92: 2592–2602.
31. Miele E, Spinelli GP, Tomao F i wsp. Albumin-bound formulation of paclitaxel (Abraxane ABI-007) in the treatment of breast cancer. *Int J Nanomed* 2009; 99–105.
32. Vogel SM, Minshall RD, Pilipovic M i wsp. Albumin uptake and transcytosis in endothelial cells in vivo induced by albumin-binding protein. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281: L1512–1522.
33. Green MR, Manikhas GM, Orlov S i wsp. Abraxane, a novel Cremophor-free, albumin-bound particle form of paclitaxel for the treatment of advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2006; 17: 1263–1268.
34. Nyman DW, Campbell KJ, Kristen Long EH i wsp. Phase I and pharmacokinetics trial of ABI-007, a novel nanoparticle formulation of paclitaxel in patients with advanced nonhematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7785–7793.
35. Lee BS, Fujita M, Khazenon NM i wsp. Polycefin, a new prototype of amultifunctional nanoconjugate based on poly(beta-L-malic acid) for drug delivery. *Bioconjug Chem* 2006; 17: 317–326.
36. Wang X, Yang L, Chen Z i wsp. Application of Nanotechnology in Cancer Therapy and Imaging. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 97–110.
37. Vasir JK, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 718–728.
38. Gabizon A, Goren D, Cohen R i wsp. Development of liposomal anthracyclines: from basics to clinical applications. *J Control Release* 1998; 53: 275–279.
39. Sahoo SK, Labhasetwar V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discov Today* 2003; 8: 1112–1120.
40. Torchilin V. Antibody-modified liposomes for cancer chemotherapy. *Expert Opin Drug Deliv* 2008; 5: 1003–1025.
41. Muller RH, Mehnert W, Lucks JS i wsp. Solid lipid nanoparticles (SLN)-an alternative colloidal carrier system for controlled drug-delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 1995; 41: 62–69.
42. Cavalli R, Caputo O, Carlotti ME i wsp. Sterilization and freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles. *Int J Pharm* 1997; 148: 47–54.
43. Almelda AJ, Souto E. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 478–490.
44. Gagnadoux F, Hureauux J, Vecellio L i wsp. Aerosolized chemotherapy. *J Aerosol Med Pulmon Drug Deliv* 2008; 21: 61–69.
45. Zhu L, Huo ZL, Wang LL i wsp. Targeted delivery of methotrexate to skeletal muscular tissue by thermosensitive magnetoliposomes. *Int J Pharmacol* 2009; 370: 136–143.
46. Treat J, Greenspan A, Forst D i wsp. Antitumor activity of liposome-encapsulated doxorubicin in advanced breast cancer: phase II study. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 1706–1710.
47. Forssen EA, Tokes ZA. Improved therapeutic benefits of doxorubicin by entrapment in anionic liposomes. *Cancer Res* 1983; 43: 546–550.
48. Eliaz RE, Nir S, Marty C i wsp. Determination and modeling of kinetics of cancer cell killing by doxorubicin and doxorubicin encapsulated in targeted liposomes. *Cancer Res* 2004; 64: 711–718.
49. Gabizon A, Martin F. Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours. *Drugs* 1997; 54: 15–21.
50. Allen TM, Martin FJ. Advantages of liposomal delivery systems for anthracyclines. *Semin Oncol* 2004; 31: 5–15.
51. Wu X, Liu H, Liu J i wsp. Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol* 2002; 21: 41–46.
52. Yake AM, Zahr AS, Jerri HA, Pishko MV, Velegol D. Localized functionalization of individual colloidal carriers for cell targeting and imaging. *Biomacromolecules* 2007; 8: 1958–1965.
53. Adams ML, Lavasanifar A, Kwon GS. Amphiphilic block copolymers for drug delivery. *J Pharm Sci* 2003; 92: 1343–1355.
54. Batrakova EV, Dorodnych TY, Klinskii EY i wsp. Anthracycline antibiotics non-covalently incorporated into the block copolymer micelles: in vivo evaluation of anti-cancer activity. *Br J Cancer* 1996; 74: 1545–1552.
55. Nakanishi T, Fukushima S, Okamoto K i wsp. Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin. *J Control Release* 2001; 74: 295–302.
56. Dabholkar RD, Sawant RM, Mongayt DA. Polyethylene glycol-phosphatidylethanolamine conjugate (PEG-PE)-based mixed micelles: some properties, loading with paclitaxel, and modulation of P-glycoprotein-mediated efflux. *Int J Pharm* 2006; 315: 148–157.
57. Kim TY, Kim DW, Chung JY i wsp. Phase I and pharmacokinetic study of Genexol-PM, a cremophor-free, polymeric micelle-formulated paclitaxel, in patients with advanced malignancies. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3708–3716.
58. Ketab B, Chiu K, Black KL i wsp. Nanoplatforms for constructing New approaches to cancer treatment, imaging, and drug delivery. What should be the policy? *NeuroImage* 2011; 54: S106–124.
59. Tekade RK, Kumar PV, Jain NK. Dendrimers in oncology: an expanding horizon. *Chem Rev* 2009; 109: 49–87.

60. Liu Z, Tabakman S, Welsher K i wsp. Carbon nanotubes in biology and medicine: In vitro and in vivo detection, imaging and drug delivery. *Nano Res* 2009; 2: 85–120.
61. Liu Z, Yang K, Lee ST Single-walled carbon nanotubes in biomedical imaging. *J Mater Chem* 2011; 21: 586–598.
62. Yang W, Thordarson P, Gooding J i wsp. Carbon nanotubes for biological and biomedical applications. *Nanotechnology* 2007; 18: 412001.
63. Kam N, Liu Z, Dai H. Functionalization of carbon nanotubes via cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 12492–12493.
64. Kam NWS, Dai H. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: Generality and biological functionality. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 6021–6026.
65. Liu Z, Sun X, Nakayama-Ratchford N i wsp. Supramolecular chemistry on water-soluble carbon nanotubes for drug loading and delivery. *ACS Nano* 2007; 1: 50–56.
66. Wang X, Liu Z. Carbon nanotubes In biology and medicine: An overview. *Chinese Science Bulletin* 2012; 57: 167–180.
67. Liu Z, Chen K, Davis C i wsp. Drug delivery with carbon nanotubes for in vivo cancer treatment. *Cancer Res* 2008; 68: 6652.
68. Xia W, Low PS. Folate-targeted therapies for cancer. *J Med Chem* 2010; 53: 6811–6824.
69. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res* 1986; 46: 6387–6392.
70. Hu CM, Zhang LF. Therapeutic nanoparticles to combat cancer drug resistance. *Curr Drug Metab* 2009; 10: 836–841.
71. Parker N, Turk MJ, Westrick E i wsp. Folate receptor expression in carcinomas and normal tissues determined by a quantitative radioligand binding assay. *Anal Biochem* 2005; 338: 284–293.
72. Low PS, Henne WA, Doorneweerd DD. Discovery and development of folic-acid-based receptor targeting for imaging and therapy of cancer and inflammatory diseases. *Acc Chem Res* 2008; 41: 120–129.
73. Pinhasi RI, Assaraf YG, Farber S i wsp. Arabinogalactan-folate-drug conjugate for targeted delivery and target-activated release of anticancer drugs to folate receptor overexpressing cells. *Biomacromolecules* 2010; 11: 294–303.
74. Wagner E, Curiel D, Cotten M. Delivery of drugs, proteins and genes into cells using transferrin as a ligand for receptor-mediated endocytosis. *Adv Drug Deliv Rev* 1994; 14: 113–135.
75. Garg A, Tisdale AW, Haidari E, Kakkoli E. Targeting colon cancer cells using PEGylated liposomes modified with a fibronectin-mimetic peptide. *Int J Pharm* 2009; 366: 201–210.
76. Ishida O, Maruyama K, Tanahashi H i wsp. Liposomes bearing polyethylene glycol-coupled transferrin with intracellular targeting property to the solid tumors in vivo. *Pharm Res* 2001; 18: 1042–1048.
77. Zhang Y, Zhang YF, Bryant J i wsp. Intravenous RNA interference gene therapy targeting the human epidermal growth factor receptor prolongs survival in intracranial brain cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3667–3677.
78. Wang M, Lowik DW, Miller AD, Thanou M. Targeting the urokinase plasminogen activator receptor with synthetic self-assembly nanoparticles. *Bioconjug Chem* 2009; 20: 32–40.
79. Yang L, Peng XH, Wang YA i wsp. Receptor-targeted nanoparticles for in vivo imaging of breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4722–4732.
80. Pasqualini R, Koivunen E, Ruoslahti E. Alpha v integrins as receptors for tumor targeting by circulating ligands. *Nat Biotechnol* 1997; 15: 542–546.
81. Schifferers RM, Koning GA, ten Hagen TL i wsp. Anti-tumor efficacy of tumor vasculature-targeted liposomal doxorubicin. *J Control Rel* 2003; 91: 115–122.
82. Zhang L, Chen H, Wang L i wsp. Delivery of therapeutic radioisotopes using nanoparticle platforms: potential benefit in systemic radiation therapy. *Nanotechnology, Science and Applications* 2010; 3: 159–170.
83. Brown JM, Wilson WR. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Cancer* 2004; 4: 437–447.
84. Cardinal J i wsp. Noninvasive radiofrequency ablation of cancer targeted by gold nanoparticles. *Surgery* 2008; 144: 125–132.
85. Chang MY, Shiao AL, Chen CJ i wsp. Increased apoptotic potential and dose-enhancing effect of gold nanoparticles in combination with single-dose clinical electron beams on tumor-bearing mice. *Cancer Sci* 2008; 99: 1479–1484.
86. Li L, Wartchow CA, Danthi SN i wsp. A novel antiangiogenesis therapy using an integrin or anti-FLK-1 antibody coated 90Y-labeled nanoparticles. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2004; 58: 1215–1227.
87. Esmaeli B, McLaughlin P, Pro B i wsp. Prospective trial of targeted radioimmunotherapy with Y-90 ibritumomab tiuxetan (Zevalin) for front-line treatment of early-stage extranodal indolent ocular adnexal lymphoma. *Ann Oncol* 2009; 20: 709–714.
88. Rossin R, Pan D, Qi K i wsp. 64Cu-labeled folate-conjugated shell cross-linked nanoparticles for tumor imaging and radiotherapy: synthesis, radiolabeling, and biological evaluation. *J Nucl Med.* 2005; 46: 1210–1218.
89. Fenart L, Casanova A, Dehouck B i wsp. Evaluation of effect of charge and lipid coating on ability of 60-nm nanoparticles to cross an in vitro model of the blood–brain barrier. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 291: 1017–1022.
90. Zhu Z, Tang ZW, Phillips JA. Regulation of singlet oxygen generation using single-walled carbon nanotubes. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 10856–10857.
91. Peng CL, Yang LY, Luo TY i wsp. Development of pH sensitive 2-(diisopropylamino) ethyl methacrylate based nanoparticles for photodynamic therapy. *Nanotechnology* 2010; 21: 155103.
92. Ji SR, Liu C, Zhang B i wsp. Carbon nanotubes in cancer diagnosis and therapy. *Biochim et Biophysica Acta* 2010; 1806: 29–35.
93. Robertson CA, Evans DH, Abrahamse H. Photodynamic therapy (PDT): a short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. *J Photochem Photobiol B Biol* 2009; 96: 1–8.
94. Wolinsky JB, Grinstaff MW. Therapeutic and diagnostic applications of dendrimers for cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60: 1037–1055.
95. Sawyer CA, Habib AH, Miller K i wsp. Modeling of temperature profile during magnetic thermotherapy for cancer treatment *J of Applied Physics* 2009; 105: 1–3.
96. Yu X, Chen L, Deng Y i wsp. Fluorescence analysis with quantum dot probes for hepatoma under one and two-photon excitation. *J Fluoresc* 2007; 17: 243–247.
97. Shi XG, Wang SH, Meshinchi S i wsp. Dendrimer-entrapped gold nanoparticles as a platform for cancer-cell targeting and imaging. *Small* 2007; 3: 1245–1252.
98. Cardinal J, Klune JG, Chory E i wsp. Noninvasive radiofrequency ablation of cancer targeted by gold nanoparticles. *Surgery* 2008; 144: 125–132.
99. Atri M. New technologies and directed agents for applications of cancer imaging. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3299–3308.
100. Gao X, Cui Y, Levenson RM i wsp. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 969–976.
101. Gaucher G, Dufresne MH, Sant VP i wsp. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. *J Control Release* 2005; 109: 169–188.
102. McMahon MT, Gilad AA, DeLiso MA i wsp. New “multicolor” polypeptide diamagnetic chemical exchange saturation transfer (DIACSET) contrast agents for MRI. *Magn Reson Med* 2008; 60: 803–812.
103. Cai W, Chen X. Preparation of peptide-conjugated quantum dots for tumor vasculature-targeted imaging. *Nat Protoc* 2008; 3: 89–96.
104. Jain KK. Nanodiagnostics: Application of nanotechnology in molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; 3: 153–161.
105. Dahan M, Laurence T, Pinud F i wsp. Time-gated biological imaging by use of colloidal quantum dots. *Opt Lett* 2001; 26: 825–827.
106. Smith AM, Dave S, Nie S, True L, Gao X. Multicolor quantum dots for molecular diagnostics of cancer. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6: 231–244.
107. Gao X, Cui Y, Levenson RM i wsp. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 969–976.
108. Bharali DJ, Lucey DW, Jayakumar H i wsp. Folate receptor-mediated delivery of InP quantum dots for bioimaging using confocal and two-photon microscopy. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 11364–11371.
109. Michalet X, Pinaud FF, Bentolila L A i wsp. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science* 2005; 307: 538–544.
110. Bharali DJ, Mousa S. Emerging nanomedicines for early cancer detection and improved treatment: Current perspective and future promise. *Pharmacol Ther* 2010; 128: 324–335.
111. Sun C, Lee JS, Zhang M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60: 1252–1265.
112. Shubayev VI, Pisanic TR, Jin S. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 467–477.
113. Veiseh O, Gunn JW, Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62: 284–304.
114. Peng XH, Qian X, Mao H i wsp. Targeted magnetic iron oxide nanoparticles for tumor imaging and therapy. *Int J Nanomed* 2008; 3: 311–321.

115. Moore A, Weissleder R, Bogdanov A. Jr Uptake of dextran-coated monocrystalline iron oxides in tumor cells and macrophages. *J Magn Reson Imaging* 1997; 7: 1140–1145.
116. Corot C, Robert P, Idee JM i wsp. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Adv Drug Deliv Rev* 2006; 58: 1471–1504.
117. Choi SH, Han MH, Moon WK i wsp. Cervical lymph node metastases: MR imaging of gadofluorine M and monocrystalline iron oxide nanoparticle-47 in a rabbit model of head and neck cancer. *Radiology* 2006; 241: 53–762.
118. Arbab AS, Yocum GT, Rad AM i wsp. Labeling of cells with ferumoxides-protamine sulfate complexes does not inhibit function or differentiation capacity of hematopoietic or mesenchymal stem cells. *NMR Biomed* 2005; 18: 553–559.
119. Maier-Hauff K, Rothe R, Scholz R i wsp. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2007; 81: 53–60.
120. Lewin M, Carlesso N, Tung CH i wsp. Tatpeptide-derivatized magnetic nanoparticles allow in vivo tracking and recovery of progenitor cells. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 410–414.
121. Kohler N, Sun C, ang J, Zhang M. Methotrexate-modified superparamagnetic nanoparticles and their intracellular uptake into human cancer cells. *Langmuir* 2005; 21: 8858–8864.
122. Yu MK Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo. *Angew Chem Int Ed Engl* 2008; 47: 5362–5365.
123. Medarova Z, Pham W, Farrar C i wsp. In vivo imaging of siRNA delivery and silencing in tumors. *Nat Med* 2007; 13: 372–377.
124. Swanson S, Kukowska-Latallo J, Patri A i wsp. Targeted gadolinium-loaded dendrimer nanoparticles for tumor-specific magnetic resonance contrast enhancement. *Int J Nanomedicine* 2008; 3: 201–210.
125. Sarin H, Kanevsky AS, Wu H i wsp. Physiologic upper limit of pore size in the blood-tumor barrier of malignant solid tumors. *J Transl Med* 2009; 7: 51.
126. Devaraj NK, Keliher EJ, Thurber GM i wsp. F-18-labeled nanoparticles for in vivo PET-CT imaging. *Bioconjug Chem* 2009; 20: 397–401.
127. Lee HY, Li Z, Chen K i wsp. PET/MRI dual-modality tumor imaging using arginine-glycine-aspartic (RGD)-conjugated radiolabeled iron oxide nanoparticles. *J Nucl Med* 2008; 49: 1371–1379.