

Mogućnosti terapijske primjene nanomaterijala u veterinarskoj medicini

Obuljen, Anamarija

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:376888>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Anamarija Obuljen

**MOGUĆNOSTI TERAPIJSKE PRIMJENE
NANOMATERIJALA U VETERINARSKOJ MEDICINI**

Diplomski rad

Zagreb, 2018.

Zavod za farmakologiju i toksikologiju

Predstojnik: Doc. dr. sc. Jelena Šuran

Mentor: Doc. dr. sc. Jelena Šuran

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof.dr. sc. Frane Božić
2. Prof.dr. sc. Andreja Prevendar Crnić
3. Doc. dr. sc. Jelena Šuran
4. Prof.dr. sc. Emil Srebočan

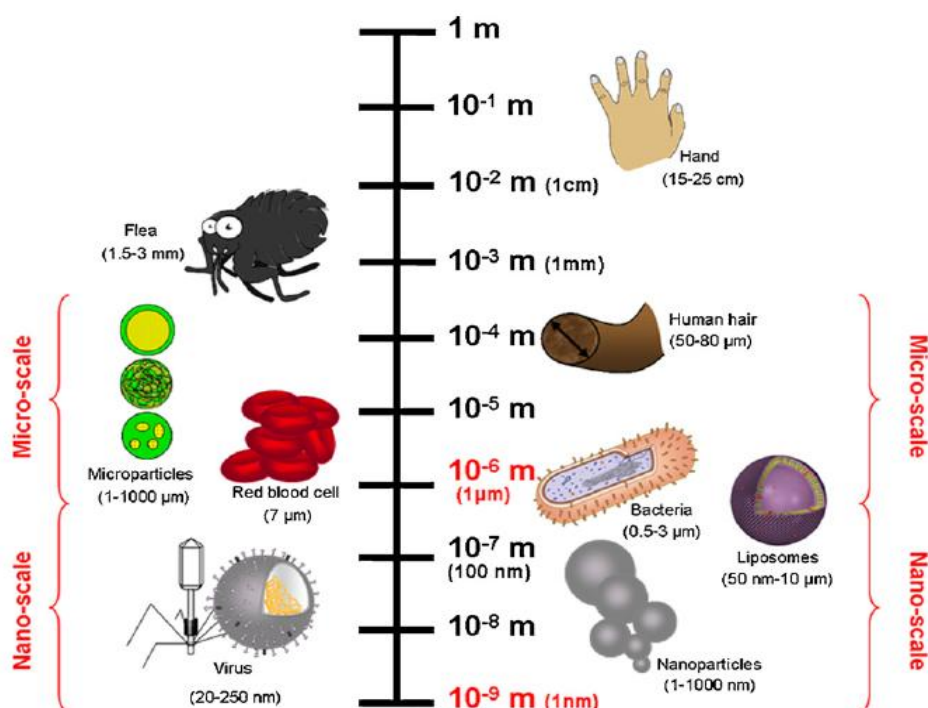
Lektor hrvatskoga jezika: Marija Luter, mag. educ. philol. croat.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. SVOJSTVA NA NANORAZINI	5
2.1. POSEBNOSTI NANOMATERIJALA U ODNOSU NA MAKROMATERIJALE	5
2.2. KEMIJSKA SVOJSTVA NANOMATERIJALA	6
2.3. BIOLOŠKA SVOJSTVA NANOMATERIJALA	8
3. NANOBIOTEHNOLOGIJA	10
3.1. MODIFIKACIJA NANOMATERIJALA ZA PRIMJENU U NANOBIOTEHNOLOGIJI	10
3.2. VEZIVANJE NANOČESTICA I BIOMOLEKULA	11
3.3. TESTIRANJE I DOSTAVA LIJEKOVA.....	13
3.4. NANOLIJEKOVI: KLASIFIKACIJA I OPĆENITOSTI	16
3.4.1. Nanokristalni lijekovi	16
3.4.2. Polimerne nanočestice	17
3.4.3. Micele.....	19
3.4.4. Dendrimeri	20
3.4.5. Polipleksi.....	22
3.4.6. Liposomi.....	22
3.4.7. Čvrste lipidne nanočestice	24
3.4.8. Nanoemulzije.....	25
3.4.9. Keramičke nanočestice	26
3.4.10. Metalne nanočestice	26
3.4.11. Ugljikove nanocjevčice	28
3.4.12. Kvantne točke.....	29
3.5. PRIMJENA NANOČESTICA U ONKOLOGIJI	29
3.5.1. Paklitaksel	30
3.5.2. Nanoformulacije doksorubicina.....	31
3.6. UPOTREBA NANOČESTICA U IZRADI CJEPIVA	32
4. ZAKLJUČAK	34
4.1. RIZICI.....	34
4.2. BUDUĆNOST	35
5. REFERENCE.....	37
SAŽETAK	41
ABSTRACT.....	42

1. UVOD

Posljednih šezdeset godina aktivno se radi na istraživanju i razvoju tehnologije koja bi nam mogla omogućiti manipuliranje pojedinačnim atomima, koja ima potencijal unaprijediti ljudska dostignuća, doprinijeti održivom razvoju materijala, vode, hrane i energije te koja bi mogla napraviti velik korak naprijed u području medicine, posebice onkologiji. Riječ je o nanotehnologiji, tehnologiji koja se bavi kreiranjem, karakterizacijom, proizvodnjom i primjenom funkcionalnih materijala, naprava i sustava na nanorazini (od 1 do 100 nm) (Slika 1.) (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Nanotehnologija ne uključuje samo jedan materijal ili vrstu materijala, ne svodi se samo na jednu granu industrije, već je interdisciplinarno područje koje uključuje medicinu, inženjerstvo, kemiju, biologiju, fiziku i računalne znanosti (LIN i sur., 2015.).



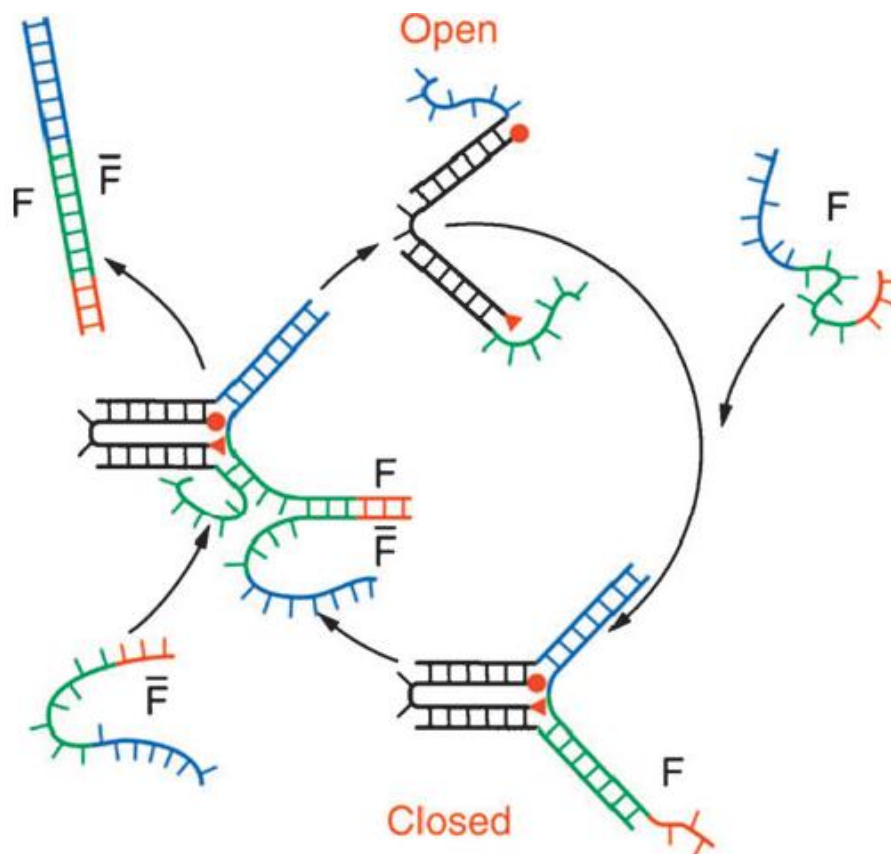
Slika 1. Usporedba veličine nanočestica s različitim biološkim komponentama [Prema: IRACHE i sur., 2011.]

Nanočestice su se nesvjesno koristile već u starom Egiptu (koloidno dispergirani pigmenti u funkciji tinte), no na to je područje pozornost prvi skrenuo dobitnik Nobelove nagrade Richard Feynman u svome čuvenom govoru održanom na CalTechu 1959. godine pod naslovom „Na dnu ima mnogo mjesta“. U govoru je istaknuo kako će se s vremenom moći kontrolirati materijali na razini atoma i molekula te je postavio pitanje „Koliko malen stroj može biti?“. Ponudio je nagradu od 1000 dolara prvoj osobi koja izradi elektromotor koji neće biti veći od 1/64 inča (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Vrlo brzo nakon predavanja nagradu je osvojio student koji je izradio motor konvencionalnog dizajna koristeći tehniku izrade satova (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Profesor Noro Taniguchi s Tokijskog sveučilišta 1974. je godine prvi upotrijebio izraz „nanotehnologija“ kako bi opisao proizvodne tehnologije s izuzetno velikom preciznošću te izuzetno malim tolerancijama dimenzija u području veličine jednog nanometra (IRACHE i sur., 2011.). Gordon E. Moore 1965. je godine u časopisu Electronics objavio članak u kojem predviđa dinamiku unapređenja mikroprocesora. To predviđanje poznatije je kao Mooreov zakon koji kaže da će se broj tranzitora u mikroprocesorskom čipu udvostručavati svakih osamnaest mjeseci, veličina tranzitora u čipu smanjivati faktorom 2 svakih osamnaest mjeseci, a cijena proizvodnje mikročipa udvostručiti svake tri godine (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Zakon se pokazao potpuno točnim te je 2007. godine Moore na Intelovoj godišnjoj konvenciji izjavio kako se njegov zakon približava svome vrhuncu jer se na sicilijском poluvodiču veličine tranzitora ne može smanjivati unedogled. Rješenje za taj problem nudi upravo nanotehnologija (KAKU, 2011.).

Industrija mikroprocesora nije jedina nastojala postići što veću preciznost. Za napredak u području dostave lijekova zaslužan je profesor Peter Speiser čija je ideja 1976. godine bila napraviti sustav dostave lijekova na ciljano područje koji bi bio kontroliran i što je više moguće umanjen (IRACHE i sur., 2011.). Paralelno s njime profesor Greg Gregoriadis i suradnici napravili su prvu nanočesticu albumina u Johns Hopkins Medical Institution u Baltimoreu (IRACHE i sur., 2011.). Patric Couvreur 1979. je godine opisao proizvodnju biorazgradive nanočestice napravljene od polimetilakrilata i polietilakrilata (IRACHE i sur., 2011.). Prvi osvrt na nanočestice 1978. je godine objavio je profesor Kreuter. Iznio je pregled upotrebe polimernih nanočestica u farmaceutske svrhe. Taj je članak 1994. godine uvršten u Enciklopediju farmaceutskih tehnologija i Enciklopediju nanotehnologije (IRACHE i sur., 2011.).

Institut za fiziku u Londonu 1990. godine počeo je izdavati prvi stručni časopis pod naslovom Nanotechnology (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Prvi udžbenik naziva „Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing and Computation“ izdan je 1992. godine (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Robert A. Freitas Jr. 1999. je objavio prvu knjigu iz područja nanomedicine u kojoj se opisuju potencijalne primjene nanotehnologije i nanorobotike u medicini.

Suradnjom tvrtke Lucent Tehnologies i Sveučilišta u Oxfordu 2000. godine napravljena je prva nanomehanička naprava bazirana na DNK-u. DNK motor (izgled pincete) sastavljen je od tri lanca sintetske DNK te koristi komplementarnu prirodu lanca kako bi se vezanjem i otpuštanjem lanca pod vanjskim utjecajem njegovi krakovi otvarali i zatvarali (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Ova tehnologija kasnije će se primijeniti u nanorobotici (Slika 2.).



Slika 2. DNK motor [Preuzeto sa URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/DNA-nanomachines-and-their-functional-evolution.-Liu-Liu/4afbfe9a6d0d42f4041d1f37d6d8a265baf46185>]

Na miševima je 2004. napravljen prvi pokus u kojem su korištene nanoljuske obložene zlatom te su upotrebljavane za uništenje stanica karcinoma crijeva (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Na nanoljuske su vezana antitijela koja prepoznaju stanice raka. Nanočestice su puštene u krvotok miševa. Budući da zlatne nanoljuske dobro apsorbiraju zračenje u bliskom infracrvenom području, tkivo je bilo izloženo zračenju određene valne duljine i snage u kratkom vremenu. Deset dana nakon terapije kod svih tretiranih miševa došlo je do potpunoga povlačenja karcinoma te su svi miševi preživjeli šezdeset dana, koliko je istraživanje i trajalo. Miševi koji nisu bili podvrgnuti tretmanu u prosjeku su preživjeli deset dana. Danas je više od 25 nanolijekova odobreno za ljudsku upotrebu te bi se broj u skoroj budućnosti mogao višestruko povećati (IRACHE i sur., 2011.).

Sve veći naponi ulažu se u razvijanje nanobiotehnologije čija je najvažnija grana nanomedicina. Nanomedicina se može definirati kao upotreba nanotehnologije za prevenciju i liječenje bolesti te u svrhu dijagnostike (IRACHE i sur., 2011.). Osim pregleda specifičnosti nanočestica, detaljnije će biti obrađena poglavlja o terapijskoj primjeni nanočestica: liječenje zaraznih i tumorskih bolesti te primjena nanotehnologije u vakcinama.

2. SVOJSTVA NA NANORAZINI

2.1. POSEBNOSTI NANOMATERIJALA U ODNOSU NA MAKROMATERIJALE

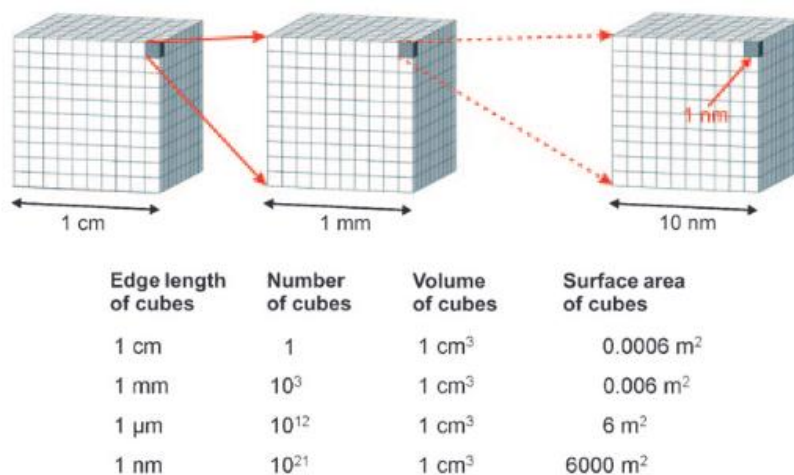
Nanotehnologija se temelji na spoznaji da čestice materijala veličine od 1 do 100 nm imaju drukčija svojstva od makročestica istoga materijala (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Za početak, zakoni klasičnoga mehaničkog modela ne vrijede na nanorazini. Pri opisu fenomena na nanorazini primjenjuje se kvantno mehanički model. Kvantna teorija ili kvantna mehanika opisuje dvojnu prirodu elektrona i interakcije elektromagnetskoga zračenja i elektrona. Osim što nanomaterijali podliježu zakonima kvantne mehanike, elektronska struktura različita je nego u makromaterijala. Također, prevladavaju elektromagnetske sile i nasumična gibanja čestica imaju veću važnost.



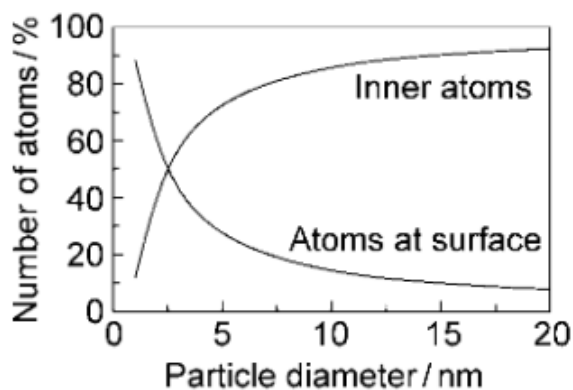
Slika 3. Efekt tuneliranja – Prema zakonu klasičnoga mehaničkog modela, kako bi elektron svladao određenu energijsku prepreku, mora imati kinetičku energiju veću od energije prepreke. Na nanoskali to nije slučaj, kvantno mehanički model omogućuje elektronima tuneliranje.

Omjer broja atoma na površini i u unutrašnjosti čestice presudan je razlog zbog kojega dolazi do promijenjenih kemijskih i fizikalnih svojstava poput kemijske reaktivnosti i topljivosti. Na makroskali taj je odnos zanemariv jer se većina atoma nalazi u unutrašnjosti

čestice. Na nanoskali je obrnuta situacija, većina atoma nalazi se na površini čestice te je omjer broja atoma na površini i u unutrašnjosti vrlo velik. Zbog većeg broja atoma na površini doći će do većeg broja neostvarenih kemijskih veza, to jest do veće energije nego što je posjeduju atomi u unutrašnjosti (Slika 4. i 5.).



Slika 4. Odnos površine i volumena nanočestica [Prema: FELDMANN i GOESMANN, 2010.]



Slika 5. Ovisnost broja atoma na površini i u unutrašnjosti čestice o veličini čestice [Prema: FELDMANN i GOESMANN, 2010.]

2.2. KEMIJSKA SVOJSTVA NANOMATERIJALA

Povećani omjer broja atoma na površini i u unutrašnjosti čestice te posljedično tomu znatno veća površinska energija ukazuju na povećanu reaktivnost nanočestica. Reaktivnost se ne mijenja proporcionalno smanjenju čestice, već pri određenim veličinama čestice pokazuju

diskontinuitet (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Reaktivnost je izravna posljedica promjene termodinamičkih i kinetičkih čimbenika.

Kinetika reakcija, kao i termodinamika, određena je veličinom čestice i njezinom površinom. Pri heterogenoj reakciji između materijala i kapljevine ili plina koji ga okružuju u početku će reagirati samo atomi na površini. Što je čestica manja, odnosno što je više atoma na površini, to je veća količina tvari u kontaktu s okolinom i time će proces biti brži. Za razliku od reaktivnosti, brzina reakcije je proporcionalna veličini čestice.

U skladu s time može se zaključiti kako će se, upravo zbog reaktivnosti, na površini nanočestice svi atomi vezati s atomima iz okruženja. Na primjer, atomi metala reagirat će s kisikom iz zraka te će čestica biti prekrivena slojem oksida. Kako su oksidi kemijski inertniji od čistoga materijala, takav nanomaterijal bit će inertniji od makromaterijala (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).

Od kemijskih svojstava potrebno je spomenuti i katalitička svojstva nanočestica. Katalizatori su tvari koje ubrzavaju odvijanje kemijske reakcije, a da pritom u njima ne sudjeluju. Materijali koji u makroobliku ne pokazuju katalitičku aktivnosti ili je ona neznatna, u nanoobliku djeluju kao katalizatori. Kao primjer možemo uzeti zlato. U makroobliku je vrlo nereaktivan, ali kao nanoskupine zlata katalitički je vrlo aktivan. To se objašnjava promjenama u elektronskoj strukturi, obliku i oksidacijskom stanju (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).

Trenutno su nanočestice, koje su ujedno i katalizatori, u fokusu interesa zbog tehnologije gorivih ćelija (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Budući da su gorive ćelije jedina alternativa fosilnim gorivima, ulažu se značajni napor za poboljšanje te tehnologije. Gorive ćelije same proizvode struju bez onečišćenja okoliša. Glavni je problem što one rade na relativno niskim temperaturama ($<100^{\circ}\text{C}$) pa im je potreban katalizator. Za tu se namjenu trenutno koristi platina koja je prilično skupa, a to je glavna prepreka u komercijalizaciji ove tehnologije. Zbog toga se radi na nanotehnološkim rješenjima kojima bi se platina u potpunosti zamijenila s jeftinijim nanomaterijalima.

2.3. BIOLOŠKA SVOJSTVA NANOMATERIJALA

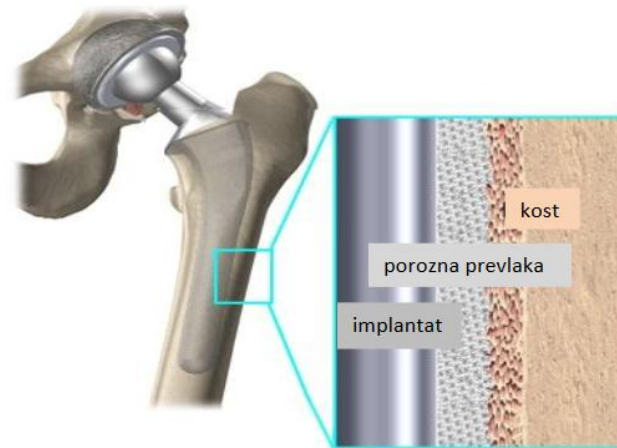
Interakcije nanomaterijala i živih organizama mogu biti raznovrsne, ponekad i vrlo kompleksne. Nanomaterijali mogu biti i biokompatibilni, ali i posve nepodnošljivi za organizam (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Osim što se ponašaju različito od makromaterijala, u okolišu i u samom organizmu mogu doživjeti niz kemijskih i fizikalnih promjena. Ne djeluju samo na organizam, već i organizam djeluje na njih. S obzirom na to, na njih treba gledati kao na dinamički sustav.

Odgovor organizma na nanočestice ovisi o puno parametara. Za početak, kao i kod drugih tvari, ovisi o načinu ulaska u organizam. Nakon ulaska u organizam nanočestice mogu stupiti u interakciju s različitim biomolekulama što može promijeniti njihova svojstva, sposobnost prijenosa i daljnju distribuciju u organizmu. Iako stanice imaju mehanizme kojima sprečavaju ulazak stranih tvari u stanicu, nanočestice imaju fizičke dimenzije, a često i površinska svojstva (npr. hidrofobnost) koja im omogućavaju prolazak kroz staničnu membranu. Nanočestice mogu, zbog nekompatibilnosti s organizmom, izazvati ozbiljne probleme. U interakciji s nekim makromolekulama mogu utjecati na stanični metabolizam ili izazvati promjenu na peptidima i proteinima. Upravo te promjene dovode se u vezu s neurodegenerativnim bolestima poput Alzheimerove ili Parkinsonove bolesti (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).

Nanomaterijali koji ne izazivaju drastične reakcije organizma su biokompatibilni materijali. Njih dijelimo, ovisno o reakciji organizma na njih, na bioinertne, bioaktivne i bioresorptivne (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Reakcije živoga organizma na nanomaterijale vrlo su važni u medicinskom pogledu.

Bioinertni nanomaterijali, poput polietilena i aluminijska, ne reagiraju s okolnim tkivom i ne otapaju se u tjelesnim tekućinama (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Primjerice, umjetni kuk sastoji se od čašice (polietilen) i metalne (titanijeva slitina) ili keramičke (aluminijev ili cirkonijev oksid) glave koja je fiksirana na metalni nastavak (titanijeva slitina). Svi materijali koji se koriste u izradi kuka su bioinertni. Metalni nastavak koji se ugrađuje u bedrenu kost premazan je s poroznom nanoprevlakom načinjenom od hidroksiapatita (Slika 6.). Hidroksiapatit djeluje bioaktivno, a bioaktivni nanomaterijali uspostavljaju kemijsku vezu s okolnim tkivom te se najčešće koriste upravo za trajne implantate (npr. umjetne zglobove) (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Najčešće

su to različite vrste stakla, keramike i hidroksiapatit. Kod implantata je najvažnije da je materijal biokompatibilan, a kod ortopedskih endoproteza važno je i stvaranje veza između materijala implantata i tkiva.



Slika 6. Hidroksiapatit je odličan izbor na poroznu prevlaku. Bioaktivan je te uspostavlja vezu s okolnim tkivom.
[Preuzeto sa URL: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0042-8450/2010/0042-84501010847R.pdf>]

Bioresorptivni nanomaterijali (npr. trikalcij fosfat i poloaktinidi) razgrađuju se i resorbiraju u organizmu pa se najčešće koriste kao nosači lijekova, matrice za stanični rast ili biorazgradivi implantati (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).

Neke nanočestice, posebice srebro, pokazuju i baktericidni učinak koji je veoma bitan s medicinskoga stajališta. Osim što se može koristiti za usporavanje ili onemogućavanje rasta bakterija, koristi se i za sprečavanje kvarenja hrane i neugodnih mirisa. Srebro je niskotoksično za organizam, a osim antibakterijskog djelovanja djeluje i antifungicidalno. Najviše se koristi pri proizvodnji medicinskih proizvoda poput zavoja, flastera, praška za rane, masti za opekline itd. (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).

3. NANOBIOTEHNOLOGIJA

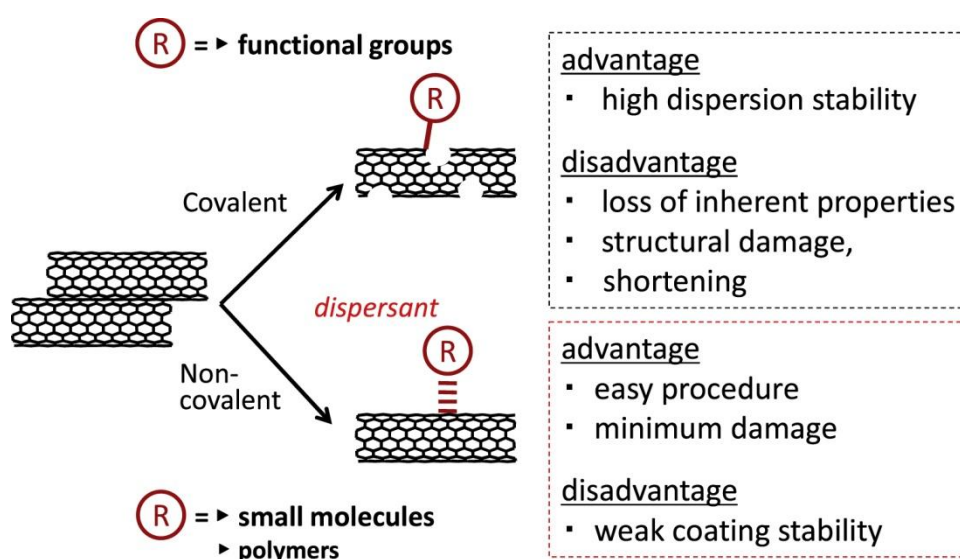
3.1. MODIFIKACIJA NANOMATERIJALA ZA PRIMJENU U NANOBIOTEHNOLOGIJI

Kao početni korak u svim primjenama u medicini, nanomaterijale je potrebno površinski modificirati (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.), prvenstveno zbog nesklada u karakteru površine većine nanomaterijala sa živim tkivom. Većina nanomaterijala (npr. ugljikove nanocjevčice) je hidrofobna i potrebno ih je dovesti u hidrofilno stanje s obzirom da se većina bioloških procesa odvija u vodenom okruženju. Kako bi se omogućila ciljana funkcionalizacija nanomaterijala DNK sekvencama, antitijelima i antigenima, potrebno je na površinu nanomaterijala dovesti molekule koje mijenjaju karakter površine (one koje sadrže hidrofilne skupine ili biomolekule) (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Dva su osnovna načina modifikacije površine nanomaterijala: kovalentna i nekovalentna modifikacija (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Kovalentna se temelji na uspostavljanju kemijskih kovalentnih veza između površine nanočestice i biomolekule, dok nekovalentna modifikacija uključuje Van der Waalsova međudjelovanja između površine nanočestice i molekule kojima modificiramo. S obzirom na sve učestalije korištenje u medicini, kovalentnu i nekovalentnu modifikaciju detaljno ćemo objasniti na primjeru ugljikovih nanocjevčica.

Netopljivost ugljikovih nanocjevčica glavna je prepreka za postizanje biokompatibilnosti i njihovu biomedicinsku primjenu. Danas su poznati brojni načini kako ostvariti topljivost i dispergiranje nanocjevčica u vodi što omogućava lakšu manipulaciju i obradu u vodenom mediju. Moguća je nekovalentna stabilizacija i modifikacija ugljikovih nanocjevčica u vodi pomoću površinski aktivnih tvari, uglavnom tenzida i polimera (Slika 7.). Molekule tenzida sastoje se od hidrofilnog dijela koji se orijentira prema vodi i hidrofobnog dijela koji se orijentira prema nanocjevčici. Glavna prednost nekovalentne modifikacije je održavanje strukture i svojstva nanocjevčica nakon modifikacije. Prednost tenzida je njihova komercijalna dostupnost, niska cijena i jednostavna priprema za modifikaciju ugljikovih nanocjevčica.

Kovalentno modificirane ugljikove nanocjevčice znatno su otpornije na daljnju manipulaciju. Nanocjevčice se kemijski vežu s molekulama koje sadrže hidrofilne skupine, periferno na krajevima ili na stijenci nanocjevčica (Slika 7.). Funkcionalizacija se provodi na mjestima defekta u strukturi.

Nakon površinske modifikacije, važnu ulogu ima površinska funkcionalizacija nanomaterijala. Na nanomaterijale možemo dodavati različite funkcionalne ili organske skupine te se mogu pričvrstiti željene biomolekule. Npr. ukoliko anorganske nanočestice površinski funkcionalizirano s različitim DNK molekulama, to daje nanočestici jedinstvena svojstva DNK, ciljano prepoznavanje i identifikaciju.



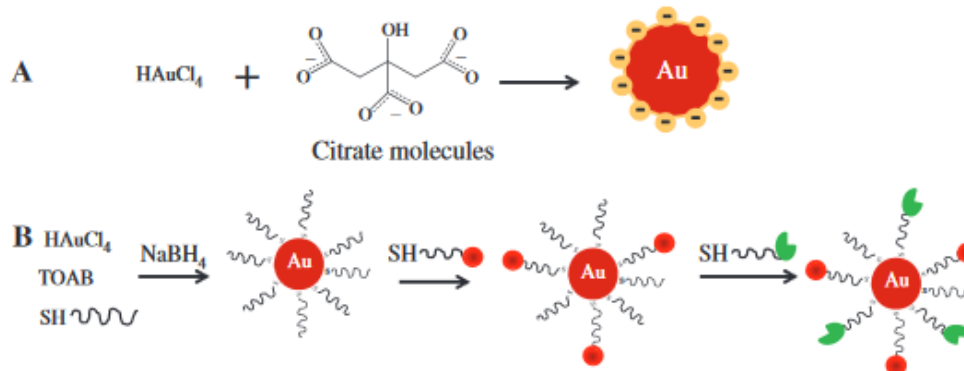
Slika 7. Prikaz modifikacije ugljikovih nanocjevčica kovalentnim i nekovalentnim pristupom

[Preuzeto sa URL: <http://iopscience.iop.org/1468-6996/16/2/024802/downloadHRFigure/figure/stam509171f1>]

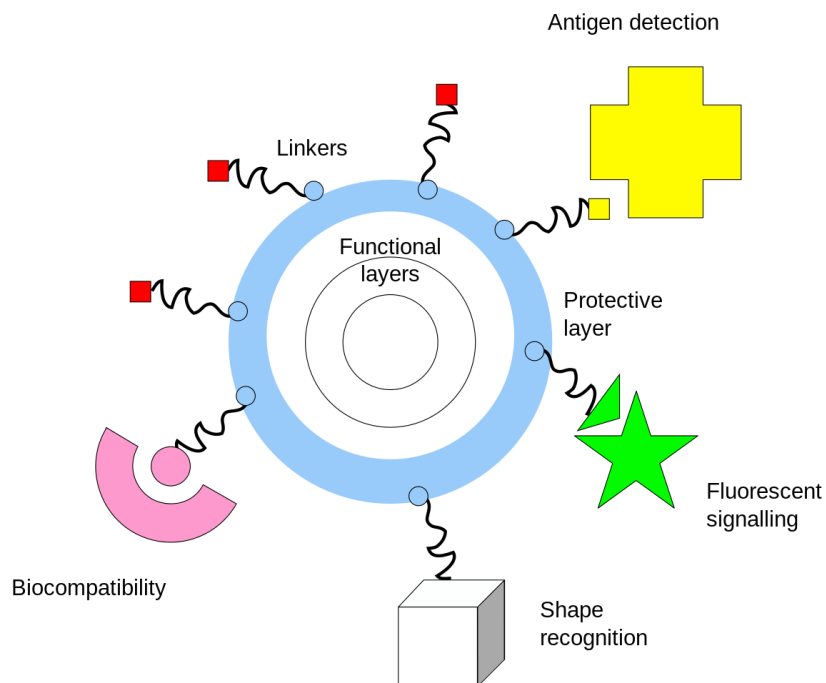
3.2. VEZIVANJE NANOČESTICA I BIOMOLEKULA

Za vezivanje s biomolekulama ili za konjugaciju nanočestica koriste se dva pristupa (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Prvi pristup funkcionira na principu izmjene postojeće stabilizirajuće tvari s jače vezujućom tvari (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.), dok se drugi pristup temelji na korištenju molekule, tzv. poveziavača (engl. *linker*),

kojom se ostvaruje međudjelovanje (kovalentna, nekovalentna ili specifična) nanočestice i biomolekule (Slika 8. i 9.) (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).



Slika 8. Shematski prikaz stabilizacije i funkcionalizacije nanočestice zlata pomoću Brust-Schiffrin metode. a) Prva faza: stabilizacija čestica citratima b) Druga faza: stabilizacija i funkcionalizacije nanočestice zlata pomoću liganda na koji su vezane tiolske skupine. Citratima stabilizirajuće čestice zlata reakcijom izmjene vezat će se za ligand koji sadrži jače vezajuću tiolsku skupinu. [Prema: BAHADUR i sur., 2014.]



Slika 9. Shematski prikaz mogućnosti vezanja biomolekula na nanočesticu. [Preuzeto sa URL: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/f0/Nanoparticles_biomolecule_interaction.svg/1200px-Nanoparticles_biomolecule_interaction.svg.png]

3.3. TESTIRANJE I DOSTAVA LIJEKOVA

Približno 95% farmakoloških pripravaka koji su dostupni na tržištu ograničeni su slabom biodostupnošću i neželjenim nuspojavama (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). S obzirom na to, postoji snažna motivacija u pronalaženju novih pristupa liječenju različitih zaraznih i tumorskih bolesti (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). U mnogim istraživanjima nanočestice su kao analgetici i protuupalni pripravci pokazale izvanredan učinak u ciljanoj terapiji tumorskih stanica i zaraznih bolesti (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Ovakvi lijekovi su još preskupi za veterinarsku medicinu, a posebno za farmske životinje (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.), dok bi u maloj praksi mogli naći svoju primjenu.

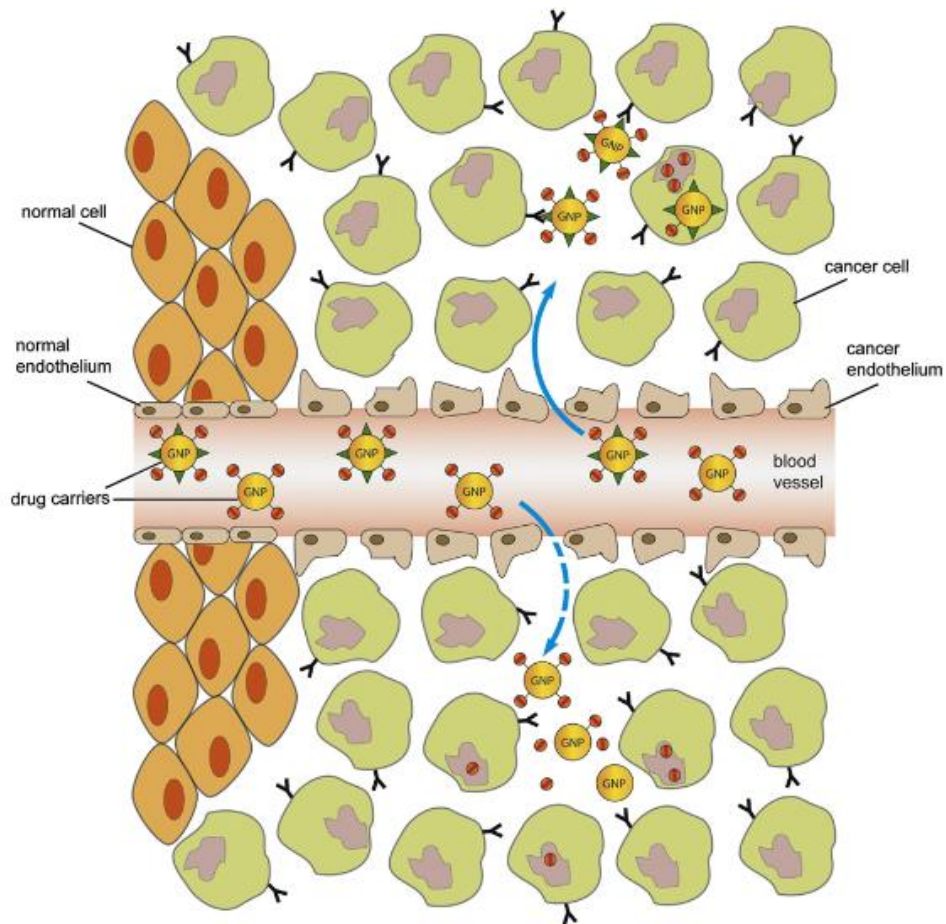
Da bi dostava lijeka pomoću nanočestica bila uspješna, potrebno je na nanomaterijal nanijeti aktivne tvari te osigurati stabilnost tog sustava i sigurnost za živi organizam. S obzirom na veliku površinu i mnogobrojne načine modifikacije imamo mogućnost ciljano napraviti sustav i strukturu nanomaterijala prema našim potrebama.

Prijenos i dostava lijekova, kroz sistemsku cirkulaciju, do tumora ili drugog ciljanog tkiva proces je koji se odvija u nekoliko faza. Prvo, nanočestica putem krvnih žila dolazi do različitih dijelova tumora. Potrebno je da nanočestica prođe stijenku krvne žile i penetrira kroz intersticijski prostor do ciljanih stanica (Slika 10.).

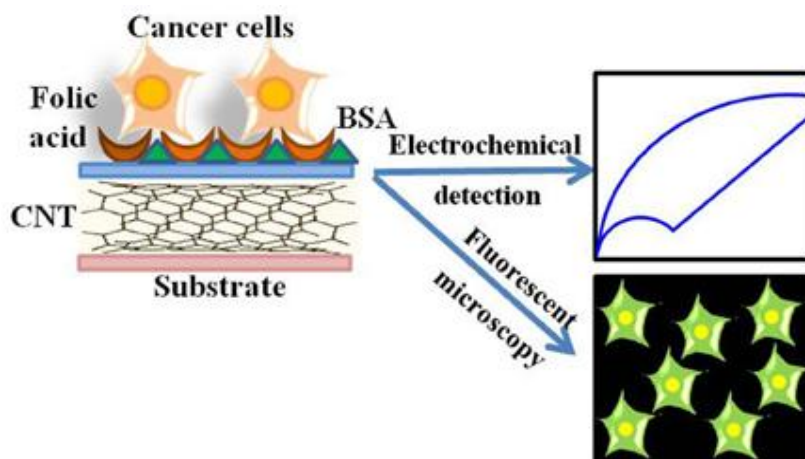
Dostava dijagnostičkih i ljekovitih tvari dramatično se razlikuje zbog razlike u građi bolesnoga (tumorskog) i zdravog tkiva. Abnormalna organizacija i struktura krvnih žila tumorskoga tkiva dovode do propuštanja i heterogenog protoka krvi. Kao dodatak tome, nedostatak limfnog tkiva i povećana propustljivost krvnih žila u tumorskom tkivu dovodi do intersticijske hipertenzije što rezultira povećanjem intersticijskog tlaka tekućine (IFP) i tvorbom barijere oko čvrstih tumora. Konvencionalni lijekovi tu barijeru ne mogu proći ili ju prolaze u nedovoljnoj koncentraciji. S druge strane, nanočestice iskorištavaju te propuste bolesnoga tkiva kako bi uspješno dostavile lijek na oboljeno mjesto. Riječ je o pasivnoj dostavi lijeka (Slika 10.) (GHOST i sur., 2008.).

Aktivna dostava lijeka razlikuje se u tome što nanočestica ne računa na abnormalnosti u građi, nego na sebe ima vezane specifične aktivne molekule (peptide i proteine) koje imaju sposobnost prepoznavanja i vezivanja na određene stanice (npr. vežu se na biomarkere koji se

javljaju samo na stanicama karcinoma). Za primjer možemo dati ugljikove nanocjevčice koje su modificirane određenim citostatikom i folnom kiselinom. Zahvaljujući folnoj kiselini moguće je prepoznavanje folatnih receptora koji se nalaze na većini karcinoma. Time se lijek otpušta samo na mjestu tumora (Slika 11.) (TÎLMACIU i MORRIS, 2015.).

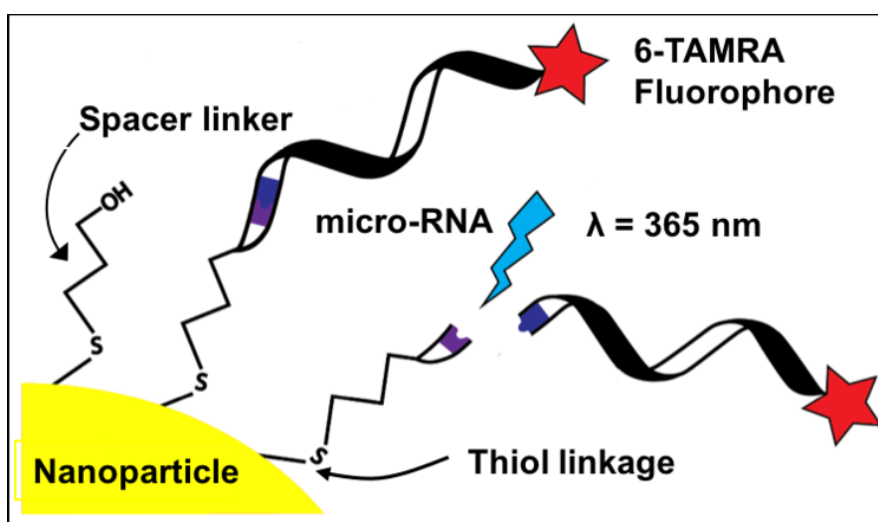


Slika 10. Shematski prikaz dostave lijekova aktivnim (donji prikaz) i pasivnim (gornji prikaz) načinom. [Prema: GHOSH i sur., 2008.]



Slika 11. Shematski primjer modifikacije ugljikovih nanocjevčica s folnom kiselinom. Osim za ciljanu dostavu lijeka, taj se princip može upotrijebiti u funkciji biosensora. [Prema: TÎLMACIU i MORRIS, 2015.]

Kontrolirano otpuštanje lijeka ovisi o načinu na koji je ljekovita tvar vezana na nanočesticu te o načinu modifikacije. Ona može biti ciljano modificirana kako bi unutar stanice ušla endocitozom kojom stanice uobičajeno unose proteine i druge tvari. Ugljikove nanocjevčice zahvaljujući svome obliku mogu pasivnim putem ući unutar stanice, a da pritom ne uzrokuju njezinu smrt. Kad nanočestica uđe u bolesnu stanicu, otpuštanje lijeka može biti potaknuto promjenama u okruženju (npr. pH, polarnost, unutarstanične biomolekule), ali i vanjskim osvjetljenjem (Slika 12.).



Slika 12. Shematski prikaz otpuštanja lijeka iniciran svjetlom. Lijek je vezan na nanočesticu pomoću linkera. Kada nanomaterijal osvjetlimo ultraljubičastim svjetlom (plava munja), veza između lijeka i nanočestica puca i

dolazi do otpuštanja lijeka. Također, lijek možemo pratiti nakon otpuštanja pomoću fluorofora vezanoga na lijek.

[Preuzeto sa

URL:<https://static1.squarespace.com/static/57acd4b6cd0f68dacf6dfcfa/t/585b5a975016e15416483035/1482382196148/Nanoparticle.png>]

3.4. NANOLIJEKOVI: KLASIFIKACIJA I OPĆENITOSTI

3.4.1. Nanokristalni lijekovi

Nanokristali se sastoje od lijeka i minimalno aktivnih tvari na površini koji se koriste za stabilizaciju te su veličine od 10 do 1000 nm (MÜLLER i sur., 2001.). Disperzijom nanokristalnih lijekova u vodenom mediju (najčešće je riječ o vodi) dobijemo nanosuspenciju (JUNGHANNS i MÜLLER, 2008.). Prilikom pripreme nanočestica najučestaliji je problem slaba topljivost u vodi. Oko 40 % aktivnih supstanci teško je identificirati upravo zbog nedostatne topljivosti u vodi (LIPINSKI, 2002.). Ako se takve molekule formuliraju koristeći konvencionalne pristupe, njihov će učinak biti loš, sa slabom biodostupnošću i nedovoljnim dozama lijeka.

Postoje različiti načini izrade nanokristalnih lijekova kako bi se dobila željena veličina i oblik. Tri osnovna načina su: pulverzacija, precipitacija, metode homogenizacije i njihove kombinacije. Najčešće korištena metoda u industriji je „*top-down*“ tehnologija. Kreće se sa praškom lijeka koji sadrži velike čestice i postepeno se reducira do željene veličine. „*NanoCrystal*“ tehnologija smatra se vodećom u ovome području, a temelji se na metodi pulverzacije u vodenom mediju (BOTTOMLEY, 2006.). „*Bottom up*“ tehnologija više se ne koristi u industriji, prvenstveno zbog nemogućnosti kontroliranja procesa i činjenice da puno lipofilnih lijekova također ima slabu topljivost u organskim otapalima.

S obzirom da izrada nanokristala dovodi po povećane površine povećana je brzina otapanja (NOYES i WHITNEY, 1897.). S obzirom na povećanu brzinu otapanja, nanokristalni lijekovi pogodni su za oralnu primjenu. Tako ih na tržištu možemo naći u obliku tableta, peleta ili kapsula. Bez obzira na to, zbog malih veličina i sigurnog sastava, možemo ih primjenjivati i parenteralno, čak i intravenozno (MERISKO-LIVERSIDGE i sur., 2003.).

Tablica 1. Sažetak nekih nanokristalnih lijekova u trenutnoj upotrebi (IRACHE i sur., 2011.).

Tvorničko ime	Djelatna tvar	Nosač lijeka	Upotreba
---------------	---------------	--------------	----------

Emend®	aprepitant	nanokristali	nuspojave uzrokovane kemoterapijama
TriCor®	fenofibrata	nanokristali	hiperkolesterolemija
Rapamune®	sirolimus	nanokristali	imunosupresivi, profilaksa za odbacivanje organa nakon presađivanja bubrega
Megace®ES	megestrol	nanokristali	karcinom dojke

3.4.2. Polimerne nanočestice

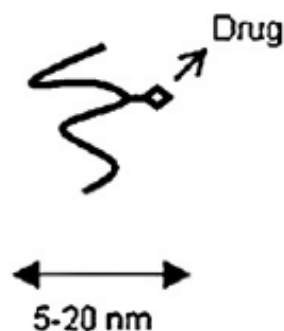
Polimerne nanočestice dobivaju se kombinacijom aktivne tvari (lijeka) s polimerom. Aktivna tvar je otopljena ili zarobljena unutar polimerne nanočestice ili apsorbirana na njejoj površini. „Polimerni terapeutici“ obuhvaćaju najmanje tri posebne skupine: polimer-lijek konjugati, polimer-proteini konjugati i sustav dostave lijekova pomoću supramolekula (micele, dendrimeri, polipleksi).

Polimer-lijek konjugati (Slika 13.) je sustav dostave lijekova kod koje su lijekovi vezani kovalentnim silama za nosač (polimer topljiv u vodi) pomoću biorazgradivog linkera (najčešće peptidni ili esterni link) (IRACHE i sur., 2011.). Polimer izabran kao nosač mora biti topljiv u vodi, netoksičan, neimunogen, razgradiv i lako uklonjiv iz organizma. Također, polimerni nosač treba sadržavati prikladnu funkcionalnu grupu za pričvršćivanje odgovarajućega lijeka, antitijela za specifičnu bolest, kako bi se mogli pričvrstiti za antigene ili receptore i grupe topljive u vodi za bolju biodostupnost (IRACHE i sur., 2011.).

Najpoznatiji polimeri koji se koriste kao nosači su: N-(2-hidroksipropil) metakrilamid kopolimeri, poli (glutamat) i albumin.

Glavne prednosti protein-lijek konjugata su: pasivno ciljanje tumorskih stanica zbog poremećene permeabilnosti i retencije, velika topljivost u biološkim tekućinama i mogućnost zaobilazanja mehanizama rezistencije na lijek (IRACHE i sur., 2011.). Primarni nedostaci polimernih nanočestica uključuju toksičnost, iritacije, potrebu za biorazgradivim topljivim materijalima te nedostatak proizvodnje velikih razmjera (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

Polymer-drug conjugate



Slika 13. Shematski prikaz polimer-lijek konjugata. [Prema: IRACHE i sur., 2011.]

Protein-polimer konjugati slični su polimer-lijekovima. Glavna je razlika što je kod protein-polimera aktivna tvar protein ili makromolekula. Najčešće korišten polimer za te svrhe je poli (etilen glikol) (PEG). „PEGylation“ tehnologija uključuje vezanje linearnih ili razgranatih derivata PGE s površinom proteina (CALICETI i sur., 2003.). Vezanje polimera za terapijski bitan protein ima nekoliko prednosti: zaštita od degradacije, dulje zadržavanje u cirkulaciji organizma te jači imunski odgovor.

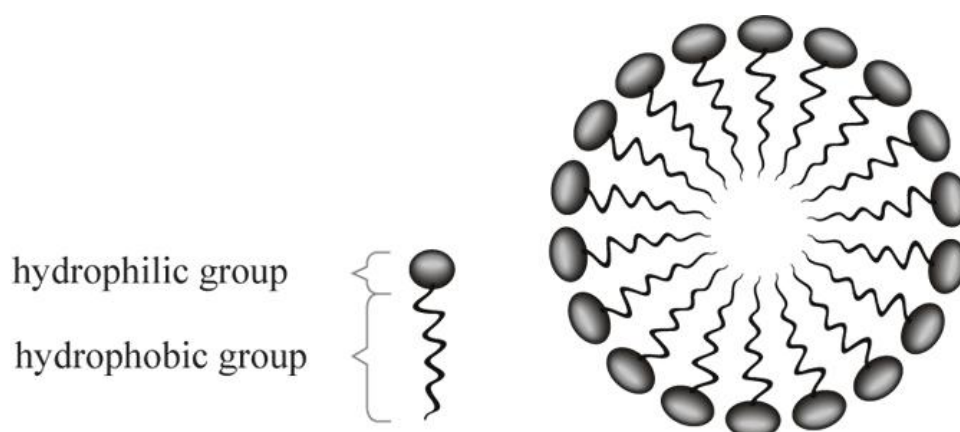
Tablica 2. Sažetak nekih polimer-lijek konjugata i protein-polimer konjugata (IRACHE i sur., 2011.).

Tvorničko ime	Djelatna tvar	Nosač lijeka	Upotreba
Xyotax®	paklitaksel	poliglutamat	karcinom jajnika
Abraxane®	paklitaksel	nanočestice albumina	karcinom dojki
Doxorubicin Transdrug®	doksorubicin	nanočestica poli(alkil cijanoakrilat)	hepatocelularni karcinom
Oncaspar®	asparaginaza	PGE konjugat	akutna limfoblastična leukemija
PGE-Asys®	interferon α -2a	PGE konjugat	hepatitis B/C, melanom
PGE-Intron®	interferon α -2b	PGE konjugat	hepatitis C, melanom

Neulasta®	faktor stimulacije rasta granulocita	PGE konjugat	leukopenija uzrokovana kemoterapijom
-----------	--------------------------------------	--------------	--------------------------------------

3.4.3. Micele

Nanostrukture nastale samoorganizacijom površinski aktivnih tvari u kapljevini nazivaju se micelama. Izgrađene su od amfofilnih molekula koje imaju hidrofobni kraj usmjeren prema unutra te hidrofilni dio usmjeren prema van, odnosno prema molekulama vode koje okružuju micelu (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Upravo zbog hidrofilne ljuske izrazito su topljive u vodi i uspješno izbjegavaju mononuklearni fagocitni sustav. Zbog izbjegavanja fagocitoze dugo se zadržavaju u cirkulaciji. Hidrofobna supstanca nalazi se unutar hidrofilne ljuske gdje je otopljena i zaštićena od enzimske razgradnje (Slika 14.).



Slika 14. Shematski prikaz građe micela. [Preuzeto sa URL: <http://eng.thesaurus.rusnano.com/upload/iblock/383/micelle1.jpg>]

Micela su podijeljene u četiri kategorije s obzirom na sastavne dijelove hidrofilnog omotača: fosfolipidne micela, pluronske micela, poli(L-aminokiselina) micela i poliesterne micela (KOO i sur., 2005.).

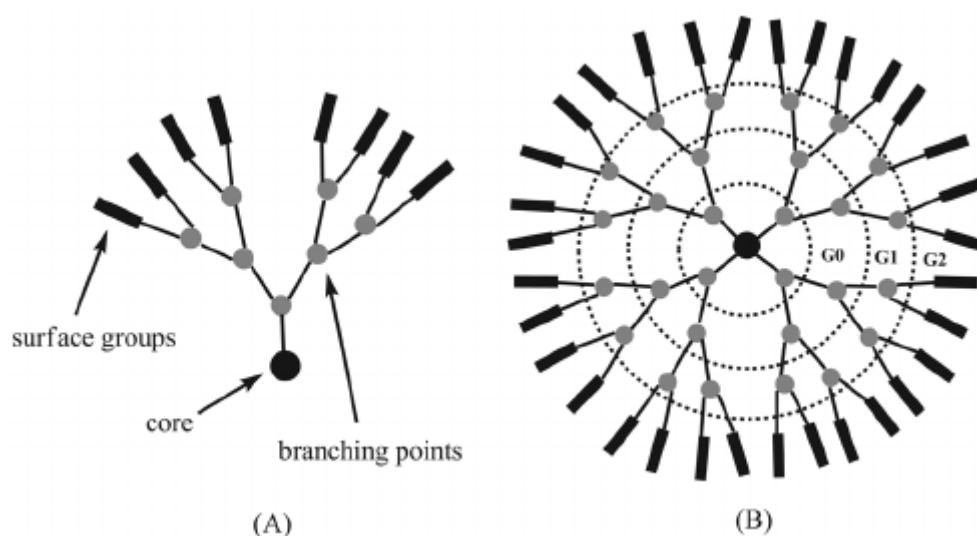
Micela se jednostavno pripremaju, imaju nisku toksičnost i prilagodljiv sustav dostave za učinkovitu ciljanu dostavu različitih aktivnih tvari. Najmanje šest različitih formula micela trenutno je u fazi kliničkih istraživanja (MATSUMURA i sur., 2009.).

Tablica 3. Sažetak nekih micela u trenutnoj upotrebi (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

Vrsta životinje	Nosač nanolijeka	Djelatna tvar	Upotreba	Način primjene
konj	mikroemulzija micele	propofol	anestezija	i/v
konj	micela	ivermektin	<i>Strongylus vulgaris</i>	i/m
ovca	micela	antigen Fasciole hepatice Fh12	<i>Fasciola hepatica</i>	sc

3.4.4. Dendrimeri

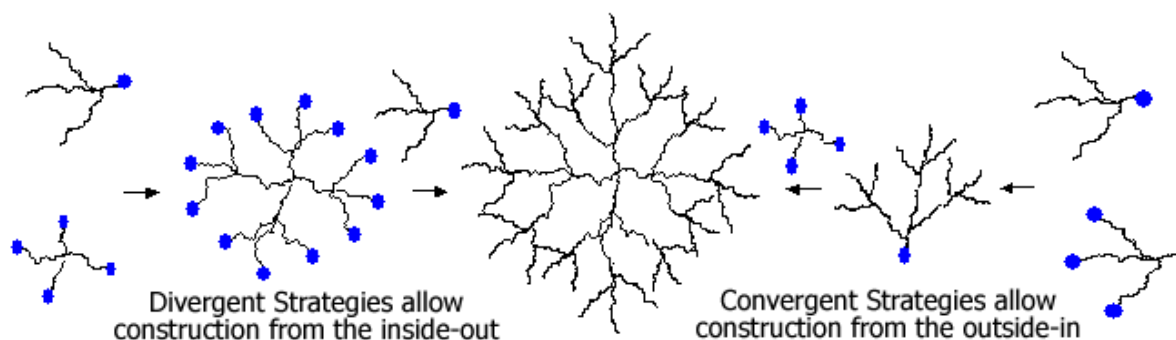
Dendrimeri su polimerne nanočestice pravilno razgranate strukture koje se odlikuju simetrijom i sferičnom morfologijom (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Na dendrimerima se razlikuju tri komponente: multivalentna površina, unutarnje šupljine koje okružuju jezgru te mjesta na koja su spojeni dendroni (SVENSON i TOMALIA, 2005). Dendroni nemaju središnju točku koju imaju dendrimeri, već imaju fokalnu točku koju tvori kemijski aktivna skupina (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.) (Slika 15.).



Slika 15. Shematski prikaz strukture dendrona (A) i denrimera (B). [Preuzeto sa URL:

https://www.researchgate.net/figure/Schematic-picture-of-dendrons-A-and-dendrimer-B-Gn-n0-2-represent-dendrimer_fig2_260776424]

Prva generacija dendrimera bili su poliamidoaminski (PAMAM) (KLAJNERT i BRYZSEWSKA, 2001.). Od kasnijih generacija mogu se istaknuti tzv. PAMAMOS dendrimere (poliamidoamini-organosilikonski derivati), polipropileniminske dendrimere, kirilne, amfofilne ili miceralne dendrimere (SAKTHIVEL i FLORENCE, 2003.) (PUSHKAR i sur., 2006.). Postoji nekoliko metoda sinteze dendrimera. U principu, sinteza se temelji na dodavanju različitih podjedinica na jezgru što na kraju dovodi do savršene trodimenzionalne strukture. Postoji konvergentna i divergentna metoda sinteze. Konvergentna metoda temelji se na dodavanju podjedinica od vanjske površine prema unutrašnjosti dok kod divergentne krećemo od jezgre (Slika 16.).



Slika 16. Shematski prikaz divergentne i konvergentne metode sinteze dendrimera. [Preuzeto sa URL:

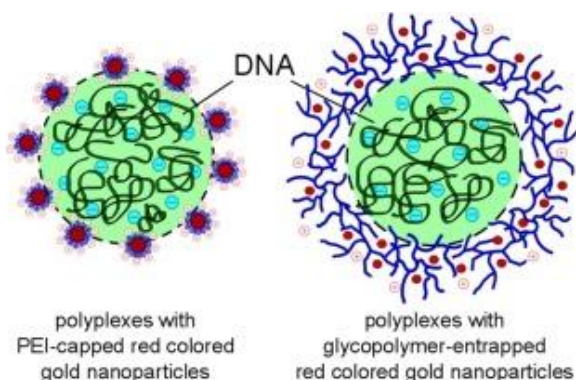
<http://www.frontiersci.com/images/dendron3.png>]

Budući da su dendrimeri multivalentni, na sebe mogu vezati različite molekule što može dovesti do poboljšanoga biološkog učinka. Najčešće se željeni lijek nalazi na površini dendrimera (tj. različite kemijske vrste vežu se na skupine na površini dendrimera), a rjeđe unutar (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Budući da krajnje skupine dendrimera reguliraju i njegovu topljivost i sposobnost vezanja, nama će to omogućiti ciljano vezanje i željenu isporuku lijeka (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Također, PAMAM dendrimeri koriste se kao vektori u genskoj terapiji (BIELINSKA i sur., 1996.). Oni na površini završavaju s amino skupinom koja interakcijom s fosfatnom skupinom nukleinskih kiselina tvori transfekcijski kompleks (MINTZER i GRINSTAFF, 2011.). Transfekcijski reagens SuperFect™ djelomično se sastoji od hidroliziranog dendrimera i dostupan je na

tržištu. Karakterizira ga visoka sposobnost da nosi veću količinu genetskog materijala i osigurava učinkovit transport DNK u jezgru (MINTZER i GRINSTAFF, 2011.).

3.4.5. Polipleksi

Kompleksi polimera s DNK-om nazivaju se polipleksima. Većina polipleksa sastoji se od kationskih polimera te je njihova proizvodnja regulirana interakcijom iona s negativnom fosfatnom grupom DNK i drugoga genetskog materijala (Slika 17.) (RUMSCHÖTTEL i sur., 2017.). Takve strukture omogućuju zaštitu DNK od degradacije te olakšava njegov ulazak u ciljanu stanicu (TROS DE ILARDUYA i sur., 2010.). Različiti kationski polimeri predloženi su kao nosači genetskog materijala za transfekciju stranog genetskog materijala unutar stanica sisavaca in vitro, uključujući dietilaminoetil (DEAE) -dekstran, poli (2-dimetilaminoetil)metakrilamid, poli-L-lizin i razne derivate (MOK i PARK, 2009.).



Slika 17. Shematski prikaz polipleksa.

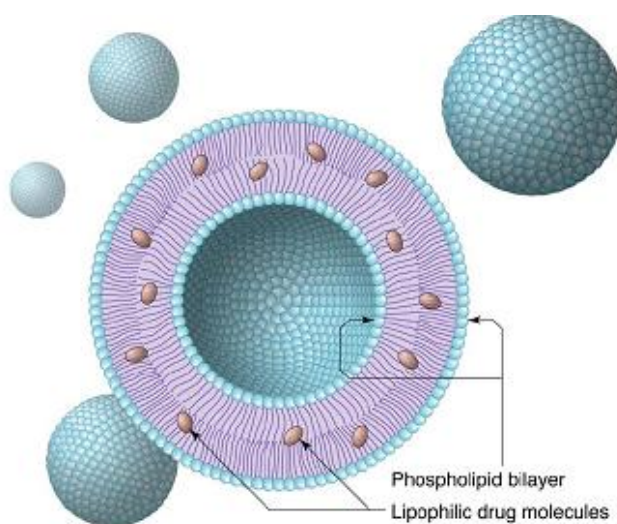
[Prema: RUMSCHÖTTEL i sur., 2017.]

3.4.6. Liposomi

Liposomi su sferične vezikule građene od vodene jezgre koja je oklopljena s jednim ili više slojeva fosfolipidnog dvosloja (membrane) (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Liposomi su korišteni kao dostavljači lijekova od 1960-tih godina, ali na tržištu su se pojavili 1986. godine kada ih je tvrtka Dior upotrijebila u kozmetičkim proizvodima (MULLER i KECK, 2004.). Liposomi su izrazito fleksibilni sustav dostave lijekova: mogu uklopiti hidrofobne, hidrofilne i amfipatske ljekovite tvari, mogu se konjugirati na antitijela ili ligand, broj fosfolipidnog dvosloja, a površinske karakteristike mogu se prilagoditi prema želji (Slika

18.). Pogodni su za lokalnu, i/v i i/m aplikaciju lijeka. Peroralni način primjene izbjegava se jer su osjetljivi na razgradnju u probavnom sustavu. Fiziološki su vrlo prihvatljivi zbog svoje netoksičnosti i neimunogenosti, zbog sličnosti s biološkim membranama i biorazgradivošću. Istraživani su sa svrhom ciljane dostave lijeka, predstavljanja antigena organizmu, kao vakcina te za dostavu genetskog materijala. Postižu odlične rezultate u istraživanjima te imaju obećavajuću budućnost.

S obzirom na veličinu i broj koncentrično posloženih slojeva, liposomi mogu biti: unilamelarni (jedan lipidni dvosloj), bilamelarni (dvostruki lipidni dvojsloj) i multilamelarni. Multilamelarne vezikule (MLVs) promjera su od 0,2 do 10 μm .



Slika 18. Shematski prikaz ugradnje lijeka unutar liposoma. Hidrofilni lijekovi smješteni su u unutarnjem vodenom dijelu, lipofilni unutar dvosloja, a proteini su smješteni kroz dvosloj.

[Preuzeto sa URL: https://en.uit.no/forskning/forskningsgrupper/sub?p_document_id=338459&sub_id=344032]

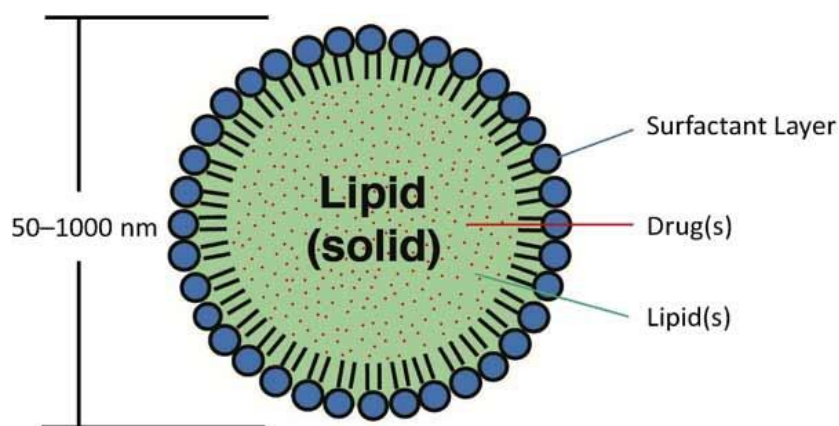
Tablica 4. Sažetak nekih liposoma u trenutnoj upotrebi (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

Vrsta životinje	Nosač nanolijeka	Djelatna tvar	Upotreba	Način primjene
mačka	liposom	IL-2 DNA	Kronični rinitis	i/p
pas	liposom	hidromorfin	analgezija	sc

svinja	liposom	A-tokoferol	nadoknada vitamina E	p/o
govedo	liposom	streptomycin	Bruceloza	intramamarno
govedo	liposom	gentamicin	S. aureus mastitis	intramamarno
konj	liposom	DNA	transfekcija spermija	n/a
ovca	liposom	Staphylococcal antigen	vakcina za mastitis uzrokovan Stafilokokom	i/m
ptica	liposom	patogen E.coli	vakcina za kolibacelozu	intraokularno

3.4.7. Čvrste lipidne nanočestice

Čvrste lipidne nanočestice (SLNs) razvijene su početkom 1990-tih godina kao alternativa emulzijama, liposomima i polimernim nanočesticama. Sastoje se od lipida koji je stabilan pri sobnoj i tjelesnoj temperaturi, stabiliziran surfaktantom i suspendiran u vodenoj otopini. Ljekovita tvar je otopljena ili raspršena unutar lipida. Za razliku od polimernih nanočestica, imaju veću učinkovitost zadržavanja lijeka unutar nanočestice te se mogu primijeniti oralno, lokalno i i/v. Također, hidrofobne ljekovite supstance stabilne su u njihovom lipidnom matriksu, štite osjetljive lijekove od okoline, sposobne su kontrolirano otpuštati lijek kroz nekoliko tjedana, minimalno su toksične za organizam i ne zahtijevaju upotrebu organskih otapala u svojoj proizvodnji (BLASI i sur., 2007.).



Slika 19. Shematski prikaz građe čvrste lipidne nanočestice.

[Preuzeto sa URL: <http://lilab-tddn.pharmsci.ubc.ca/research/lipid-based-delivery-systems/solid-lipid-nanoparticle/>]

3.4.8. Nanoemulzije

Nanoemulzije su disperzija ulja i vode pri čemu se raspršene kapljice stabiliziraju pomoću površinski aktivnih tvari (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Površinski aktivne tvari ne mogu stvoriti emulziju, već je samo mogu stabilizirati. Bez prisutnosti stabilizatora smjesa bi bila nestabilna te bi dolazilo do separacije faza (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Lijekovi se najčešće dodaju u fazi disperzije pri čemu su kapljice veličine 20 do 200 nm.

Prednost nanoemulzije svakako je jednostavnost i jeftina izrada, visoka stabilnost, sposobnost topljivosti lipofilnih tvari te zaštita lijeka od degradacije. S obzirom na nisku cijenu i izradu nanoemulzija bez korištenja otapala, nanoemulzije su se našle u širokoj upotrebi u veterinarskoj medicini (VANDAMME i ANTON, 2010.), a obećavajući rezultati posebice su postignuti u primjeni per os i transdermalno. Nanoemulzije su ipak relativno nova nanočestica na tržištu i s obzirom da se koriste prilikom izrade velike koncentracije surfaktanata i ko-surfaktanata, dovodi se u pitanje njihova toksičnost (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

Tablica 5. Sažetak nekih nanoemulzija u trenutnoj upotrebi (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

Vrsta životinje	Nosač nanolijeka	Djelatna tvar	Upotreba	Način primjene
mačka	emulzija	propofol	anestezija	i/v

pas	emulzija	ciklosporin	imunosupresijski lijek za sprečavanja odbacivanja transplatanta	p/o

3.4.9. Keramičke nanočestice

Keramičke nanočestice izrađene su od materijala poput silike, aluminijska oksida i titanija. Imaju nekoliko prednosti u odnosu na polimerne nanočestice: jednostavna priprema, mogućnost izrade željenoga oblika, veličine i poroznosti, velik omjer površine i volumena, visoka površinska prilagodljivost i ekstremno su inertni. Također, lijek koji nose štiti od denaturacije izazvane promjenama pH i temperature. Usprkos mnogobrojnim prednostima, u obzir se mora uzeti i potencijalna toksičnost. Na primjer, titanijske nanočestice *in vivo* pokazuju visoku toksičnost u štakora (FADEEL i GARCIA-BENNETT, 2010.).

3.4.10. Metalne nanočestice

Zlato, srebro i bakar najčešće su korišteni metali za pripremu nanočestica, a zlatne su nanočestice najintenzivnije istražene (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Metalne nanočestice lako se mogu sintetizirati u rasponu od 1-150 nm, stabilne su i mogu se konjugirati s različitim funkcionalnim grupama (JAIN i sur., 2007.). Metalne nanočestice uglavnom se upotrebljavaju za termoterapiju tumora, ali su s godinama bile isprobane za ciljanu dostavu lijekova. Ipak, kroz godine istraživanja metalne nanočestice pokazale su se izrazito toksičnima za organizam. Izazivaju oksidativni stres, dugo se zadržavaju u tkivima te su toksične za respiratorni sustav (SHAW i HANDY, 2011.).

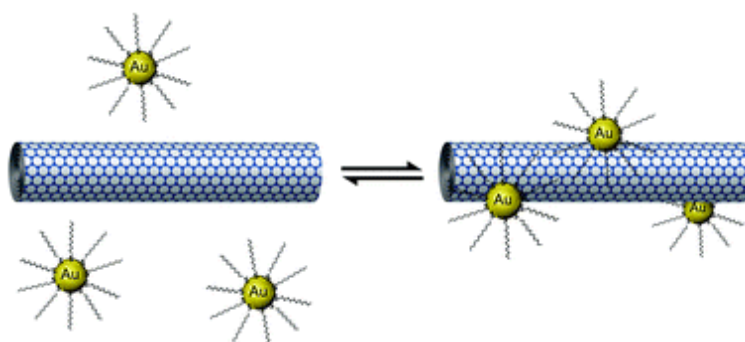
Nanočestice srebra najraširenije su metalne nanočestice upravo zbog svoga baktericidnog učinka. Naime, one kataliziraju stvaranje radikala kisika koji oksidiraju molekularne strukture bakterija. Površine premazane sa srebrnim nanočesticama otporne su na rast bakterija. Proizvodi koji se s ovom formulacijom mogu naći na tržištu su zavoji, gaze i flasteri (Slika 20.).



Slika 20. Srebrne nanočestice čine plišane medvjediće nepovoljnom površinom za razvoj bakterija. Nedavno se pokrenula rasprava je li to revolucija plišanih igračaka ili opasnost za okoliš i ljude.

[Preuzeto sa URL: <http://www.nisenet.org/catalog/nanosilver-breakthrough-or-biohazard>]

Uz srebro, zlatne nanočestice imaju široku primjenu u medicini, bilo u dijagnostičke ili terapijske svrhe. Možemo istaknuti nanokompleks ugljikovih nanocjevčica i nanočestica zlata (Slika 21.). Mehanizmom antigen-antitijelo nanocjevčice obložene zlatom vežu se na tumorske stanice (selektivno vezanje). Zahvaljujući izduženom obliku nanocjevčica pomaknuta je valna duljina iz vidljivoga u blisko infracrveno područje. Kada ozračimo željeno mjesto, zrake prodiru kroz kožu i meka tkiva ne oštećujući ih te dolaze do nanocjevčica obloženih zlatom. One apsorbiraju zračenje, pritom se zagrijevaju te tako uništavaju tumorske stanice (RANCE i KHLOBYSTOV, 2014.).

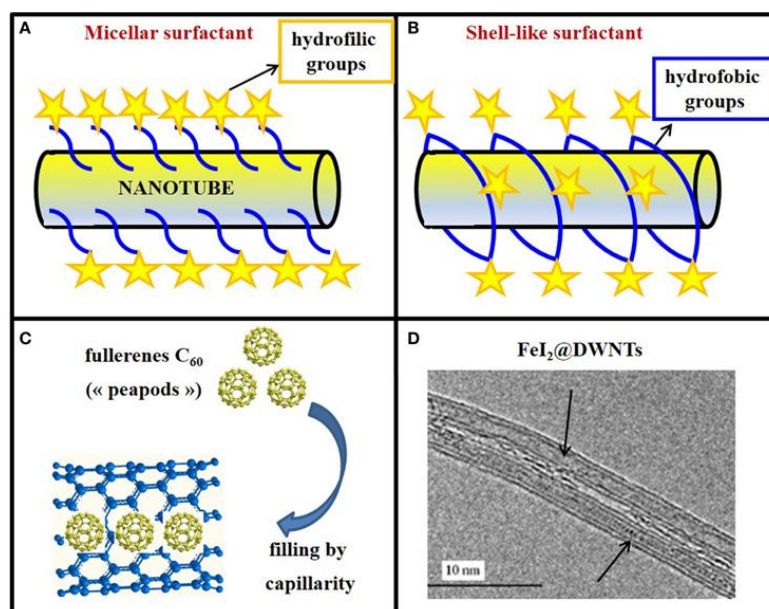


Slika 21. Shematski prikaz ugljikovih nanocjevčica (lijevo) i ugljikovih nanočestica obloženih zlatom (desno).

[Prema: RANCE i KHLOBYSTOV, 2014.]

3.4.11. Ugljikove nanocjevčice

Ugljikove nanocjevčice (CNTs) su alotropske modifikacije ugljika s cilindričnom nanostrukturom. Izrađene su samo od ugljika te posjeduju jedinstvena električna, mehanička, toplinska i druga svojstva. Izuzetna svojstva, brojne mogućnosti modifikacije i funkcionalizacije nisu prošle neopaženo u medicini (Slika 22) (RANCE i KHLOBYSTOV, 2014.). Danas se ugljikove nanocjevčice koriste kao biosenzori, za ciljanu dostavu lijekova i inženjerstvo tkiva.



Slika 22. Shematski prikaz funkcionalizacije nanocjevčica: nekovalentna površinska funkcionalizacija s micelarnim surfaktantom (A), nanocjevčica omotana s površinski aktivnim tvarima (B), model nanocjevčice ispunjen fulerenom (C), nanocjevčica cijelom dužinom ispunjena sa željeznim (II) jodidom (D). [Prema: RANCE i KHLOBYSTOV, 2014.]

Unatoč velikomu interesu, ostala su otvorena mnogobrojna pitanja. Trenutno sa sigurnošću možemo reći kako nanocjevčice mogu biti u funkciji distribucijskih sustava za dostavu lijekova, antigena i gena u stanice. Međutim, izloženost organizma, duljina zaostajanja u biološkim sustavima te njihova potencijalna toksičnost ostaju neizvjesni. Provedena istraživanja in vitro i in vivo ne daju dovoljno dobre dokaze budući da su se koristile samo stanične linije.

3.4.12. Kvantne točke

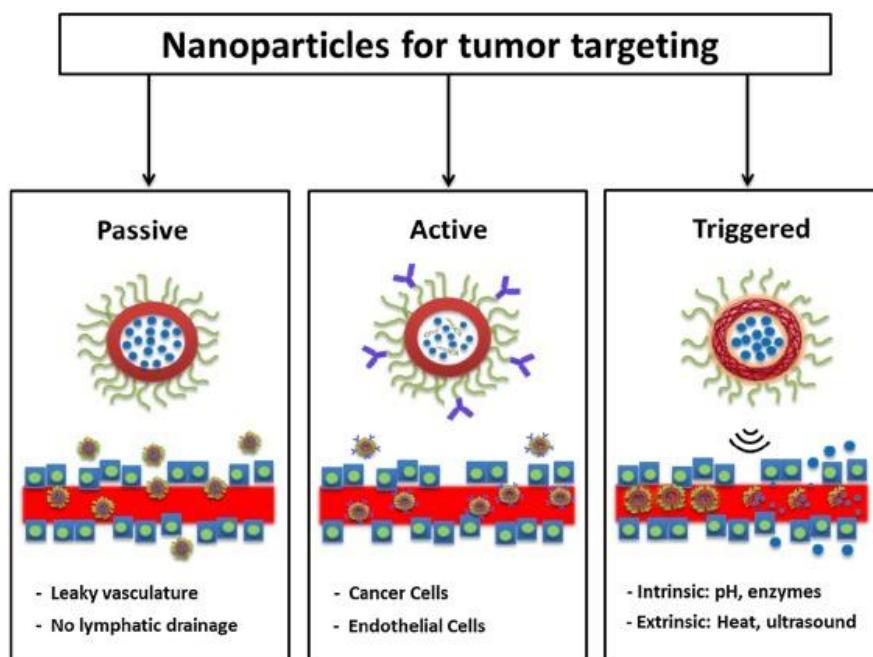
Kvantne točke su nanočestice izrađene od poluvodiča veličine 2-10 nm te posjeduju jedinstvena optička svojstva. Imaju potencijal za primjenu u dijagnostici i liječenju tumorskih bolesti. Kvantne točke sastoje se od anorganske jezgre, anorganske ljuske i vodenog omotača na koji se mogu konjugirati biomolekule (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Iako se u dijagnostičke svrhe koriste prvenstveno kvantne točke, moguće ih je modificirati za dostavu lijekova. Međutim, klinička aplikacija kvantnih točaka ograničena je potencijalnom citotoksičnošću i sporom eliminacijom iz organizma (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Najčešće su izgrađene od kadmija, telurija i olova za koje se pretpostavlja da su toksični za žive stanice (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.).

3.5. PRIMJENA NANOČESTICA U ONKOLOGIJI

Kućni ljubimci, ponajviše psi i mačke, spontano razvijaju različite vrste tumora poput tumori mliječne žlijezde, osteosarkoma, skvamoznih stanica i tumora bazalnih stanica. Tumori u životinja veoma su slični tumorima kod ljudi (ROWELL i sur., 2011.), stoga se koriste u predkliničkim istraživanjima za razvoj novih lijekova (LIN i sur., 2015.).

Nanotehnologija je ponudila potpuno drukčiji pristup tumorima i dala nadu za raniju detekciju, prevenciju i tretiranje tumora. Od niza prednosti nanolijekova, u onkologiji je potrebno izdvojiti nekoliko ključnih: ciljana dostava lijekova, uspješna dostava više od jednoga lijeka (ukoliko se radi o kombiniranoj terapiji) i smanjenje nuspojava liječenja. Više od 20 nanočestica odobreno je od strane FDA za kliničku upotrebu u veterinarskoj medicini (JAIN i STYLIANOPOULOS, 2010.).

Nanočestice koje koristimo u liječenju tumora možemo podijeliti u dvije skupine: anorganske ili „čvrste“ nanočestice (zlato, željezovi oksidi, kvantne točke i ugljikove nanocjevčice) (LIN i sur., 2015.) i organske ili „mekane“ nanočestice (liposomi, dendrimeri, micelle i polimerne nanočestice) (LIN i sur., 2015.). Nanočestice se koriste za dostavu kemoterapeutika kao inhibitori manjih molekula i citokina na mjestu tumora (Slika 23.) (ZHANG i sur., 2014.). Njihove različite formulacije mogu poboljšati terapijski indeks, povećati maksimalno dozvoljene doze (MDD) te vratiti u upotrebu lijekove koji su učinkoviti ali toksični, slabo topljivi u vodi ili su nestabilne molekule (npr. siRNA).



Slika 23. U poglavlju 3.3. već su objašnjeni bazični principi ciljane dostave kemoterapeutika i kontroliranoga otpuštanja. [Prema: ZHANG i sur., 2014.]

3.5.1. Paklitaksel

Prva odobrena nanoformulacija u veterinarskoj onkologiji od strane FDA-a bila je Paccal Vet[®] koja se sastoji od paklitaksela u micelama. Odobrenje za korištenje u svrhu liječenja tumora mliječne žlijezde i skvamoznih stanica u pasa dobio je 2014. godine. Iako paklitaksel u ljudi ima puno širi raspon liječenja, u životinja je njegovo korištenje ograničeno zbog reakcije preosjetljivosti na nosač paklitaksela, Cremophor EL.

Tablica 6. Sažetak nekih nanoformulacija paklitaksela u trenutnoj upotrebi (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

VRSTA	LJEK	APLIKACIJA	TUMOR	TOKSIČNOST
pas	Liposom/paklitaksel	i/v	tumor pluća s metastazama	minimalna toksičnost, moguća lokalna alergijska reakcija
pas	Paccal Vet	i/v	mastocitomi	neutropenija, leukopenija,

				mijelosupresija
--	--	--	--	-----------------

3.5.2. Nanoformulacije doksorubicina

U pasa i mačaka, doksorubicin u kombinaciji s liposomima, izrazito je aktualan u liječenju sarkoma i karcinoma (LIN i sur., 2015.). U kliničkom istraživanju na 51-om psu sa zloćudnim tumorima, Doxil je imao pozitivan odgovor u 25,5 %. Zanimljivo je napomenuti kako intraperitonealna primjena Doxila nije imala poboljšanje ukupnog preživljavanja i prevencije ponavljanja tumora u usporedbi s konvencionalnim formuliranjem doksorubicina. Doxil (1 mg/kg) u mačaka s postvakcinalnim sarkomom daje pozitivan odgovor u 39% oboljelih i prosječnim vremenom oporavka od 84 dana (LIN i sur., 2015.). Sličan je rezultat u mačaka koje primaju slobodan doksorubicin. Unatoč sličnoj učinkovitosti, nanoformulacija doksorubicina je manje kardiotoksična.

Tablica 7. Sažetak nekih nanočestica/doksorubicin sustava u trenutnoj upotrebi (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

VRSTA	LIJEK	APLIKACIJA	TUMOR	TOKSIČNOST
pas	Doxil	i/p	hemangiosarkom slezene	moгуće alergijske reakcije
pas	Liposom/doksorubicin	i/v	mijelom	-
pas	Doxil	i/v	non-Hodgkinov limfom	manje kardiotoksičan od slobodnog doksorubicina
mačka	Doxil	i/v	postvakcinalni sarkom	lokalizirana hiperpigmentacija i alopecija, kasna nefrotoksikoza
kunić	Doxil	i/v	sarkom	progresivna kardiomiopatija

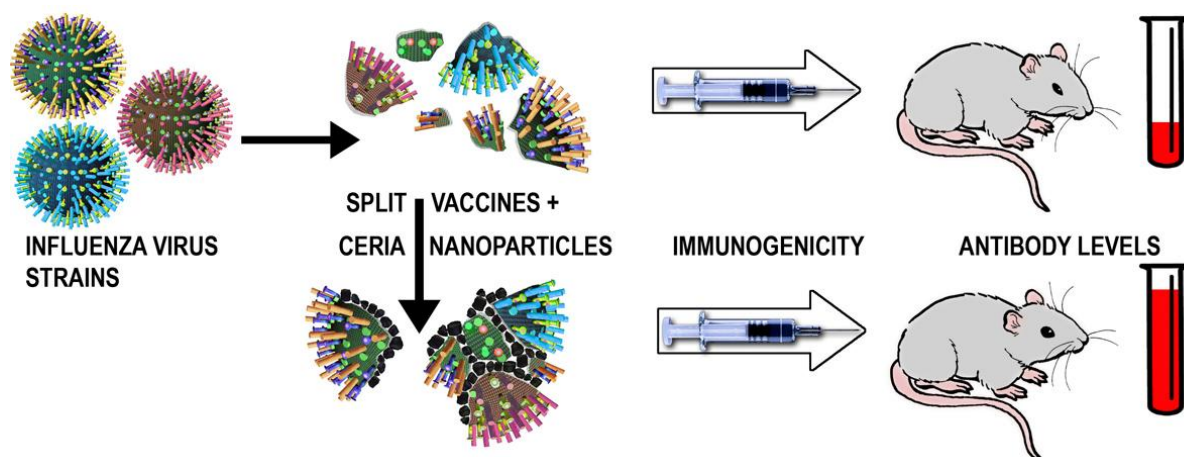
3.6. UPOTREBA NANOČESTICA U IZRADI CJEPIVA

U današnje je vrijeme neupitna važnost cjepiva u kontroli zaraznih bolesti. Cjepiva, prvenstveno sastavljena od antigena i adjuvansa, napravljena su u svrhu poticanja dugotrajnog odgovora antitijelima na patogen. U zadnjih nekoliko desetljeća razvoj cjepiva je napredovao, počeli su se koristiti sigurniji sintetski peptidi i rekombinirani proteini (NORDLY i sur., 2009.). Novi kandidati za cjepiva uglavnom su loše imunogeni i osjetljivi na razgradnju te su potrebni optimalni adjuvansi koji će poboljšati imunogenost. S napretkom nanotehnologije došlo je do razvoja adjuvansa baziranih na nanočesticama.

Adjuvansi na bazi nanočestica visoko su prilagodljivi, omogućuju da se učestalost vakcinacije smanji kao i potrebna doza te da se vakcina prilagodi željenom načinu aplikacije (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Upravo te sposobnosti čine ih prikladnima za upotrebu u veterinarskoj medicini s obzirom da je često potrebno cijepiti veliki broj životinja odjednom ili nepristupačnih životinjskih vrsta (npr. divlje životinje) (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.). Dozvoljeni adjuvansi za veterinarske potrebe (ili u kliničkim istraživanjima) uključuju emulzije, liposome, anorganske nanočestice, imunostimulirajuće komplekse (ISCOMs) te polistirenske nanobaze (NORDLY i sur., 2009., SCHEERLINCK i sur., 2006.). Za svakodnevnu upotrebu u veterini adjuvansi na bazi nanočestica trebaju biti: jeftini, stabilni, jednostavni za primjenu te biorazgradivi u vrsta koje služe za ljudsku konzumaciju.

Važno je napomenuti da adjuvansi na bazi nanočestica povećavaju imunogenost cjepiva (Slika 24.) na potencijalno četiri načina (NORDLY i sur., 2009.):

- 1) Oponašajući molekularne uzorke slične patogenu koji mogu aktivirati receptore za prepoznavanje te time pokrenuti intracelularnu signalnu kaskadu koju inicira urođeni imunitet, imunosni odgovor bit će jači i poboljšan.
- 2) Adjuvansi mogu kontrolirati vrijeme zadržavanja, mjesto i dozu otpuštanja antigena te tako održavati razinu imuniteta i poboljšanu translokaciju antigena u limfne čvorove.
- 3) Adjuvansi na bazi nanočestica djeluju kao „skladišta“ antigena te tako imaju produljeno otpuštanje antigena.
- 4) Nanočestice mogu otpuštati stanice slične virusu, sa sličnom morfologijom virusne kapside, te tako izazivati imunološki odgovor, a da uopće ne posjeduju infektivni genetski materijal kao odgovor na infekciju.



Slika 24. Nanočestica cerij dioksid značajno poboljšava imugenost cjeviva protiv influence.

[Preuzeto sa URL: <https://atlasofscience.org/cerium-dioxide-nanoparticles-increase-immunogenicity-of-the-influenza-vaccine/>]

Do sada se razvilo ili je u procesu razvijanja preko 40 vakcina za životinjske vrste: influenza konja, *Streptococcus equi var. equi*, slinavka i šap, *Toxoplasma gondii* u preživača, newcastelska bolest peradi, atrofični rinitis u svinja, parvovirus u pasa, atopični dermatitis u pasa itd. (UNDERWOOD i VAN EPS, 2012.).

4. ZAKLJUČAK

4.1. RIZICI

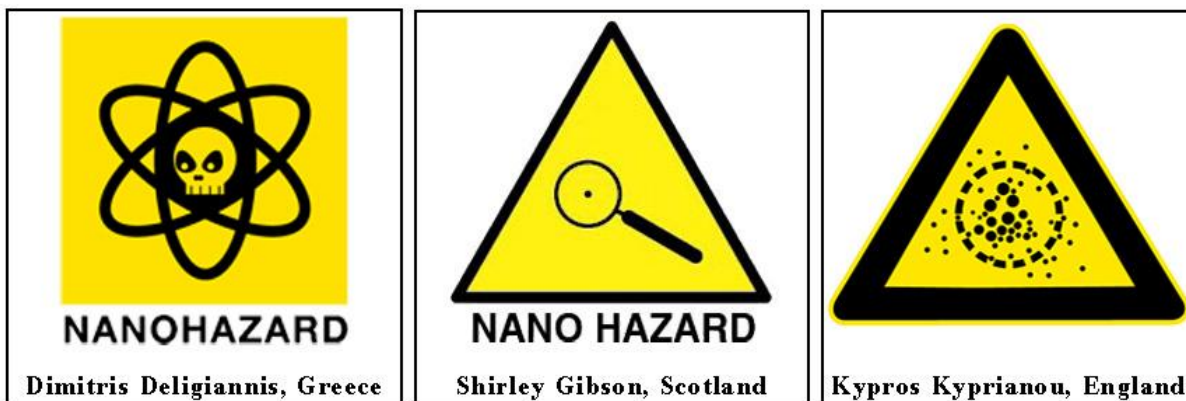
Nanotehnologija je logičan korak naprijed u znanosti i tehnologiji. Iako donosi mnogobrojne prednosti, potrebno je uložiti dodatan trud u istraživanje toksičnosti nanočestica i nanomaterijala za ljude i životinje. Mnogi ljudi nisu svjesni postojanja nanotehnologije kao takve te je o svakom napretku, a tako i riziku, potrebno informirati javnost kako se o njoj ne bi stvorila negativna slika (kao na primjer s GMO-om).

U veterinarskoj medicini, osim učinka nanočestica na životinje, dodatna pozornost treba se usmjeriti na koji način te životinje utječu na ljude s kojima su u kontaktu te na rezidue u hrani za ljudsku konzumaciju.

Toksičnost nanočestica može se očitovati trovanjem ili alergijskom reakcijom organizma. Ukoliko je nanočestica toksična za određeno tkivo, vezat će se na proteine ili enzime i onemogućavati će njegovu fiziološku funkciju (KURAJICA I LUČIĆ BLAGOJEVIĆ, 2017.). Alergijska reakcija nastaje ukoliko organizam nanočesticu ili nanomaterijal prepozna kao strano tijelo te pokrene uobičajen mehanizam eliminacije stranoga tijela. Ukoliko ga organizam ne može ukloniti, on postaje mjestom trajne lokalne upale.

Moramo imati na umu da nanočestice iz nekoliko jednostavnih razloga mogu još toksičnije djelovati na organizam od opisanih načina. Velika površina nanočestice omogućuje znatno bolji kontakt sa stanicama. Nanočestice su kemijski aktivnije od makročestica (npr. metalna nanočestica znatno je više ionizirana od makročestice, a metali su uglavnom toksični u ioniziranom obliku, ne u elementarnom). Dodatan problem izaziva činjenica da nanočestice mogu proći kroz barijere u organizmu koje bi zaustavile makročestice. S pojedinim nanomaterijalima organizam se još nije susreo što dovodi u pitanje imunološki odgovor. On može izostati ukoliko ga organizam ne prepozna kao strano tijelo, a ako nije bio u kontaktu s njime, neće ga ni prepoznati.

Osim povećane upotrebe nanotehnologije u medicini, povećana upotreba u komercijalne i industrijske svrhe dovodi do povećane prisutnosti nanočestica u okolišu što značajno utječe na životinjsku populaciju (posebno ribe) (O'BRIEN i CUMMINS, 2010.).



Slika 25. ETC Grupa organizirala je natječaj za znak za nanoopasnost. Na slici su prikazana tri finalna odabira (od 482 predložena). [Preuzeto sa URL: <http://www.etcgroup.org/content/winners-nano-hazard-symbol-contest-announced-world-social-forum>]

Životinje, posebice mačke, psi i kunići, često su korišteni u pretkliničkim istraživanjima kako bi se uvidjela toksičnost i početne doze za istraživanja na ljudima. Iako puno korištenih molekula nije namijenjeno za životinjske vrste, pretklinička istraživanja daju obilje korisnih informacija o toksičnosti u životinja.

Brojne međunarodne agencije za sigurnost lijekova ukazale su na problem toksičnosti i sigurnosti pri korištenju nanolijekova (Slika 25.). Iako su pokrenuta brojna pitanja, pristup agencija treba biti zajednički i u korak s novim istraživanjima kako bi se donijele nanoregulative koje bi se mijenjale jednakom dinamikom s novim otkrićima.

4.2. BUDUĆNOST

U posljednjih nekoliko desetljeća veterinarska medicina značajno je napredovala, što zbog sve većeg zanimanja za kućne ljubimce i njihovo zdravlje, što zbog sve većeg i intenzivnijeg uzgoja domaćih životinja. Vlasnici očekuju preciznu i brzu dijagnostiku te uspješno liječenje svojih životinja. Nanomedicina nudi sve mogućnosti, no ipak je potrebna komercijalizacija proizvoda kako bi bili dostupni široj javnosti.

Za veterinarsku medicinu važno je zapamtiti:

- 1) Nanomaterijali pokazuju izraziti potencijal kao nosači lijekova, te se time omogućava poboljšana biodostupnost i farmakokinetika lijekova, kontrolirano otpuštanje lijeka i smanjena sistemska toksičnost.
- 2) Nanotehnologija je ponudila potpuno drukčiji pristup tumorima i dala nadu za raniju detekciju, prevenciju i liječenje tumora. Time se onkološkim pacijentima, posebice mačkama i psima, daju veće šanse za izliječenje i drastično smanjenje nuspojava.
- 3) Adjuvansi na bazi nanočestica omogućuju da se smanji učestalost vakcinacije, kao i potrebna doza, te da se vakcina prilagodi željenom načinu aplikacije. To nam je posebno važno kod farmskih životinja i prilikom vakcinacije divljih životinja.

Puno se ulaže i radi na napretku nanotehnologije. Sva njezina daljnja primjena u eksperimentalnim i kliničkim istraživanjima zahtijevat će još bolje razumijevanje nanosustava, s naglaskom na mehanizme biodistribucije i izlučivanja nanočestica iz organizma. Iz svega prikazanog možemo zaključiti kako se ukazala značajna potreba i interes za nanomaterijalima u veterinarskoj medicini. Potencijal nanotehnologije je golem te će bolje razumijevanje i kontrola fenomena na nanorazini dovesti do napretka u brojnim područjima.

5. REFERENCE

- BAHADUR K.C., R., THAPA, B., & BHATTARAI, N. (2014): Gold nanoparticle-based gene delivery: promises and challenges. *Nanotechnology Reviews*, 3(3).
- BIELINSKA, A.U., KUKOWSKA-LATALLO, J.F., JOHNSON, J., TOMALIA, D.A., BAKER, J.R. (1996.): Regulation of in vitro gene expression using antisense oligonucleotides or antisense expression plasmids transfected using starburst PAMAM dendrimers. *Nucleic Acids Res.* 24, 2176–2182.
- BLASI, P., GIOVAGNOLI, S., SCHOUBBEN, A., RICCI, M., ROSSI, C. (2007.): Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59, 454–477.
- BOTTOMLEY, K. (2006.): Nanotechnology for drug delivery: a validated technology? *Drug Deliv. Rep.* (Autumn/Winter), 20–21.
- CALICETI P, VERONESE FM. (2003.): Pharmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)-protein conjugates. *Adv Drug Deliv Rev.* ;55(10):1261-77.
- FADEEL, B., GARCIA-BENNETT, A.E. (2010.): Better safe than sorry: Understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 62, 362–374.
- GHOSH, P., HAN, G., DE, M., KIM, C., & ROTELLO, V. (2008.): Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(11), 1307–1315.
- GOESMANN, H., & FELDMANN, C. (2010.): Nanoparticulate Functional Materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(8), 1362–1395.
- IRACHE, J. M., ESPARZA, I., GAMAZO, C., AGÜEROS, M., & ESPUELAS, S. (2011.): Nanomedicine: Novel approaches in human and veterinary therapeutics. *Veterinary Parasitology*, 180(1–2), 47–71.
- JAIN RK, STYLIANOPOULOS T. (2010.): Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat Rev Clin Oncol.* ;7(11):653-64.

JAIN, P.K., EL-SAYAD, I.H., EL-SAYED, M.H. (2007.): Au nanoparticles target cancer. *Nano Today* 2, 18–29.

JUNGHANNS JU, MÜLLER RH (2008.): Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *International journal of nanomedicine.* ; 3(3):295-309.

KAKU M. (2011.): *Physics of the Future*. Zagreb: Mate.

KLAJNERT B, BRYSZEWSKA M. (2001.): Dendrimers: properties and applications. *Acta Biochim Pol.* ;48(1):199-208.

KOO, O. M., RUBINSTEIN, I., & ONYUKSEL, H. (2005.): Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1(3), 193–212.

KURAJICA S., LUČIĆ BLAGOJEVIĆ S. (2017.): *Uvod u nanotehnologiju*. Zagreb: Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa.

LIN, T., RODRIGUEZ, C. O., JR, & LI, Y. (2015.): Nanomedicine in veterinary oncology. *The Veterinary Journal*, 205(2), 189–197.

LIPINSKI, C.A. (2002.) Poor aqueous solubility: an industry wide problem in drug discovery *Am. Pharm. Rev.* 5, 82–85.

MATSUMURA Y, KATAOKA K. (2009.): Preclinical and clinical studies of anticancer agent-incorporating polymer micelles. *Cancer Sci.*;100(4):572-9.

MERISKO-LIVERSIDGE E, LIVERSIDGE GG, COOPER ER. (2003.): Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences.*; 18(2):113-20.

MINTZER, M.A., GRINSTAFF, M.W. (2011.): Biomedical applications of dendrimers: a tutorial. *Chem. Soc. Rev.* 40, 173–190.

MOK, H., PARK, T.G. (2009.): Functional polymers for targeted delivery of nucleic acid drugs. *Macromol. Biosci.* 9, 731–743.

MÜLLER RH, JACOBS C, KAYSER O. (2001.): Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy. Rationale for development and what we can expect for the future. *Advanced drug delivery reviews.*; 47(1):3-19.

MULLER, R.H., KECK, C.M. (2004.): Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs – A review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of Biotechnology* 113, 151–170.

NAVROTSKY, A. (2011). Nanoscale Effects on Thermodynamics and Phase Equilibria in Oxide Systems. *ChemPhysChem*, 12(12), 2207–2215.

NORDLY, P., MADSEN, H.B., NIELSEN, H.M., FOGED, C. (2009.): Status and future prospects of lipid-based particulate delivery systems as vaccine adjuvants and their combination with immunostimulators. *Expert Opinion on Drug Delivery* 6, 657–672.

NOYES, A. A., & WHITNEY, W. R. (1897). the rate of solution of solid substances in their own solutions. *Journal of the American Chemical Society*, 19(12), 930–934.

O'BRIEN, N., CUMMINS, E. (2010.): Ranking initial environmental and human health risk resulting from environmentally relevant nanomaterials. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* 45, 992–1007.

PUSHKAR, S., PHILIP, A., PATHAK, K., PATHAK, D. (2006.): Dendrimers: nanotechnology derived novel polymers in drug delivery. *Indian J. Pharm. Educ.Res.* 40, 153–158.

RANCE, G.A. AND KHLOBYSTOV, A.N. (2014): Interactions of carbon nanotubes and gold nanoparticles: The effects of solvent dielectric constant and temperature on controlled assembly of superstructures

ROWELL, J.L., MCCARTHY, D.O., ALVAREZ, C.E. (2011.): Dog models of naturally occurring cancer. *Trends in Molecular Medicine* 17, 380-388.

RUMSCHÖTTEL, J., BAUS, S., KOSMELLA, S., APPELHANS, D., & KOETZ, J. (2017.): Incorporation of DNA/PEI polyplexes into gelatin/chitosan hydrogel scaffolds: a μ -DSC study. *Composite Interfaces*, 25(1), 1–11.

SAKTHIVEL T, FLORENCE AT. (2003.): Adsorption of amphipathic dendrons on polystyrene nanoparticles. *Int J Pharm.*;254(1):23-6.

SCHEERLINCK, J.P., GLOSTER, S., GAMVRELLIS, A., MOTTRAM, P.L., PLEBANSKI, M. (2006.): Systemic immune responses in sheep, induced by a novel nano-bead adjuvant. *Vaccine* 24, 1124–1131.

SHAW, B.J., HANDY, R.D. (2011.): Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions. *Environment International* 37, 1083–1097.

SVENSON, S., & TOMALIA, D. (2005). Dendrimers in biomedical applications—reflections on the field. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(15), 2106–2129.

TÎLMACIU, C.-M., & MORRIS, M. C. (2015.): Carbon nanotube biosensors. *Frontiers in Chemistry*, 3.

TROS DE ILARDUYA, C., SUN, Y., DÜZGÜNES, N. (2010.): Gene delivery by lipoplexes and polyplexes. *Eur. J. Pharm. Sci.* 40, 159–170.

UNDERWOOD, C., & VAN EPS, A. W. (2012). Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality. *The Veterinary Journal*, 193(1), 12–23.

VANDAMME, T.F., ANTON, N. (2010.): Low-energy nanoemulsification to design veterinary controlled drug delivery devices. *International Journal of Nanomedicine* 5, 867–873.

ZHANG X, AZHAR G, ROGERS SC, FOSTER SR, LUO S, WEI JY (2014.): Overexpression of p49/STRAP alters cellular cytoskeletal structure and gross anatomy in mice. *BMC Cell Biol.*; 15:32.

Mogućnosti terapijske primjene nanomaterijala u veterinarskoj medicini

SAŽETAK

Nanotehnologija je interdisciplinarno područje koje proučava svojstva materijala na nanorazini, od 1 do 100 nm. S razvojem nanočestica i upoznavanjem njihovih mogućnosti razvilo se široko područje - nanomedicina. Nanomaterijali se koriste u dijagnostici i u terapijske svrhe u humanoj medicini već desetljećima, dok je njihova primjena u veterini relativno nova.

U veterinarskoj medicini fokus se stavlja na primjenu nanomaterijala u ciljanoj dostavi lijekova i vakcina te u dijagnostičke svrhe. Glavne prednosti nanomaterijala u dostavi lijekova su poboljšana biodostupnost i farmakokinetika, kontrolirano otpuštanje lijeka i smanjena sistemska toksičnost.

U terapijske svrhe do sada su uspješno primijenjeni: nanokristali, polimerne nanočestice u koje ulaze micle, dendrimeri i polipleski, liposomi, nanoemulzije, čvrste lipidne nanočestice i anorganske nanočestice (ugljkove nanočestice, keramičke i metalne nanočestice). Velike nade polažu se u nanotehnologiju u području onkologije. Nanočestice mogu poboljšati terapijski indeks, povećati maksimalne dozvoljene doze (MDD) te vratiti u upotrebu lijekove koji su učinkoviti, ali toksični, slabo topljivi u vodi ili su nestabilne molekule.

Iako pružaju mnoge prednosti, potrebno ih je dodatno razvijati kako bi se što bolje razumjelo njihovo djelovanje, zaostajanje u organizmima i okolišu. Za neke nanočestice (npr. keramičke nanočestice) zna se da pokazuju izrazitu nanotoksičnost u laboratorijskih životinja. U veterinarskoj medicini sve se više pozornosti pridodaje brzom, učinkovitom, minimalno toksičnom i jeftinom liječenju. Sve to nudi nanotehnologija.

Therapeutic opportunities for the application of nanomaterials in veterinary medicine

ABSTRACT

Nanotechnology is an interdisciplinary field that studies properties of the material on nanoscale, from 1 to 100 nm. With the development of nanoparticles and getting to know their possibilities, a wide area developed – nanomedicine. Nanomaterials have been used for diagnostic and therapeutic purposes in human medicine for decades, while their use in veterinary is relatively new.

Many reports have shown evidence that nanoparticles may be good candidates for drug delivery system. The main advantages of nanomaterials as precise drug delivery systems are improved bioavailability and pharmacokinetics, controlled release of the drug, and decreased systemic toxicity.

So far, for therapeutic purpose we can discuss the following nanoformulations: nanocrystals, polymeric nanoparticles, micelles, dendrimers, polyplex, liposome, nanoemulsions, solid lipid nanoparticles and inorganic nanoparticles (e.g. carbon nanotubes, ceramic and metallic nanomaterials). Nanoparticles can improve the therapeutic index, increase the maximum permissible dose (MDD), reuse drugs that are effective but toxic, poorly soluble in water or unstable molecules.

While providing many benefits, nanoparticles need to be further developed to better understand their actions, persistence in organisms and the environment. For some (e.g. ceramic nanoparticles) it is known to exhibit a significant nanotoxicity in laboratory animals. In the veterinary field, more and more attention is paid to fast, effective, minimal toxic and inexpensive treatment. All this is provided by nanotechnology.