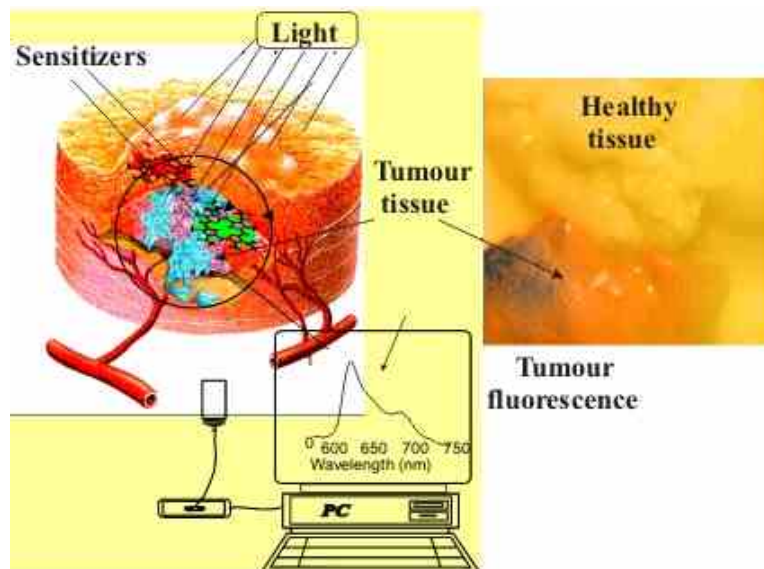


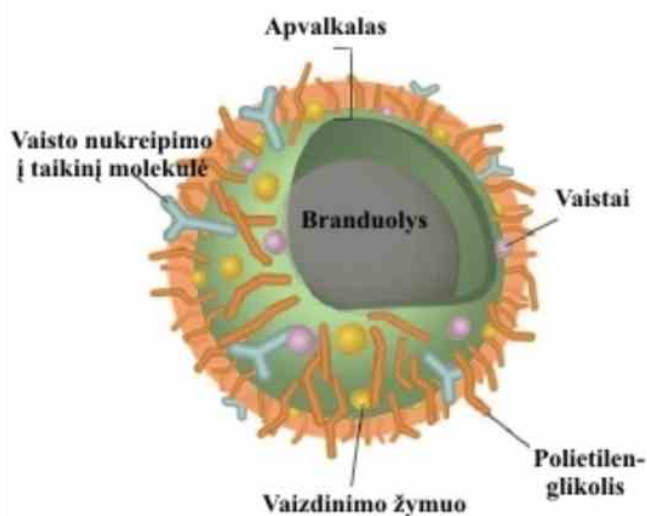
## 7. NANOTECHNOLOGIJOS – VĖŽIO OPTINEI BIOPSIJAI

Svarbiausioji šiandienio onkologijos mokslo problema – kaip rasti būdą selektyviai pašalinti ar sunaikinti naviką. Chemoterapiniai vaistai nėra selektyvūs navikui ir neigiamai veikia visą žmogaus organizmą. Navikams švitinti naudojama jonizuojanti spinduliuotė taip pat nėra selektyvi, ji pažeidžia ir aplinkinius sveikus audinius. Vienas iš radikaliausių metodų yra chirurginis, tačiau, norint užtikrinti sėkmingą operaciją, tenka šalinti ir prie naviko esančius sveikus audinius. XX a. aštuntajame dešimtmetyje sukurtas naujas navikinių ligų gydymo metodas – fotosensibilizuota navikų terapija (literatūroje dažnai vadinamas fotodinamine terapija), kuri pasižymi selektyvumu navikiniam dariniams, tačiau taikymą diagnostikai ir gydymui riboja daugelis kitų veiksnių (Dolmans ir kt., 2003; Rotomskis ir kt., 2002). Fotosensibilizuotai terapijai naudojami fotosensibilizatoriai gali būti taikomi ir sensibilizuota fluorescencija grįstai navikinių audinių optinei biopsijai. Šie fotosensibilizatoriai gana selektyviai kaupiasi navikiniuose audiniuose ir pasižymi diagnostikai tinkamomis fluorescencinėmis savybėmis (7.1 pav.). Tačiau jų taikymą optinei biopsijai riboja nepakankamas fluorescencijos intensyvumas „audinių optinio skaidrumo lango“ srityje ir mažas fotostabilumas.



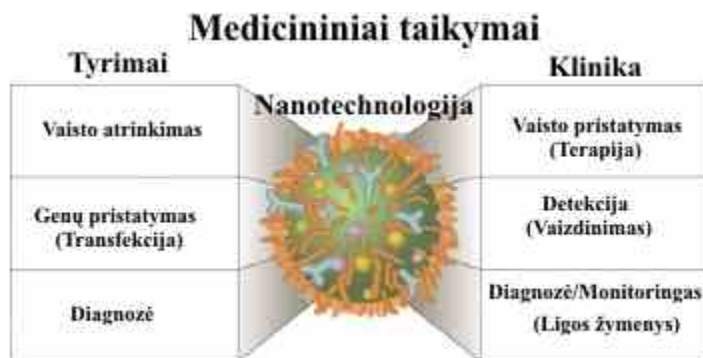
7.1 pav. Sensibilizuoto navikinio audinio optinė biopsija

Šiuo metu į pagalbą medikams ateina naujos technologijos. Ypač perspektyvios yra nanotechnologijos. Nanotechnologijoms priskiriamos tyrinėjimų ir technologijų sritys, kurių objektas – struktūrų, įrankių ar sistemų, jeigu jų matmenys yra nuo 1 iki 100 nm, kūrimas. Šios srities mokslininkai kuria daugiafunkčius nanodalelių darinius, kurie taikomi medicinoje ligoms diagnozuoti bei gydyti. Dėl mažo dydžio tokios struktūros pasižymi unikaliomis savybėmis bei funkcijomis. Beveik visos šios dalelės, atitinkamai chemiškai modifikavus jų paviršių, gali tapti biosensoriais, fluorescenciniais žymenimis ar tiksliniais vaistų nešikliais (7.2 pav.). Tyrimų duomenimis, tikslingas antinavikinių vaistų pristatymas į konkrečius taikinius ląstelėse ar audiniuose gali būti pasiektas įterpus vaistus į nanodaleles. Įkapsuliuoti į nanodaleles citostatikai veikia veiksmingiau ir sukelia mažiau šalutinių poveikių.



**7.2 pav.** Daugiafunkcė nanodalelė. Dalelės apvalkalas gali būti modifikuotas hidrofiliniais polimerais, tikslinėmis biologinio atpažinimo, vaistų molekulėmis arba vaizdinimo žymenimis. Vidinis dalelės branduolys gali būti kietas (pavyzdžiui, kvantinių taškų) arba skystas (pavyzdžiui, liposomų)

Nanotechnologijos sudaro beveik neribotas galimybes kuriant modifikuotas nanodaleles įvairiais taikymo medicinoje tikslais (7.3 pav.).



7.3 pav. Nanotechnologijų taikymas medicinos tikslams. Keičiant nanodalelių dydį ir modifikuojant paviršių galima jas taikyti įvairiose medicinos srityse

Viena iš nanodalelių rūšių, pasižyminti specifinėmis optinėmis savybėmis ir jau taikoma vėžio optinei biopsijai, yra puslaidininkinės nanodalelės – kvantiniai taškai. Jų fluorescencija keliomis eilėmis intensyvesnė nei įprastų fluoroforų, o fluorescencijos juostos siauros. Prie kvantinių taškų kovalentiniais ryšiais prijungus biologinio atpažinimo molekules, tokias kaip peptidai, antikūnai ar nukleorūgštys, juos galima tikslingai nukreipti į taikinius ląstelėse ar audiniuose ir taip gauti fluorescencinius optinės biopsijos vaizdus. Taikant kvantinius taškus, optinės biopsijos jautrumas, palyginti su įprastais organiniais fluoroforais, padidėja nuo 10 iki 100 kartų. Šiuo metu tiriamos jų galimybės generuoti singuletinį deguonį tiesiogiai arba energijos pernašos būdu per fotosensibilizatorių ir sukelti vėžio ląsteles naikinančius vyksmus (Samia ir kt., 2003; Bakalova ir kt., 2004). Šiuolaikinė mokslo pažanga leidžia tikėtis, kad kvantiniai taškai greitai bus taikomi vienu metu ir vėžio diagnostikai, ir gydymui.

### 7.1. Trumpa nanodalelių rūšių apžvalga

Nanodydžių instrumentai ir jų komponentai yra tos pačios eilės dydžiai kaip biologiniai vienetai. Jie mažesni už žmogaus ląsteles, kurių skersmuo 10000–20000 nm, ir jų organelės, panašaus dydžio kaip didelės biologinės makromolekulės, tokios kaip fermentai ir receptoriai (McNeil, 2005). Nanodalelės, kurių skersmuo yra iki 50 nm, yra

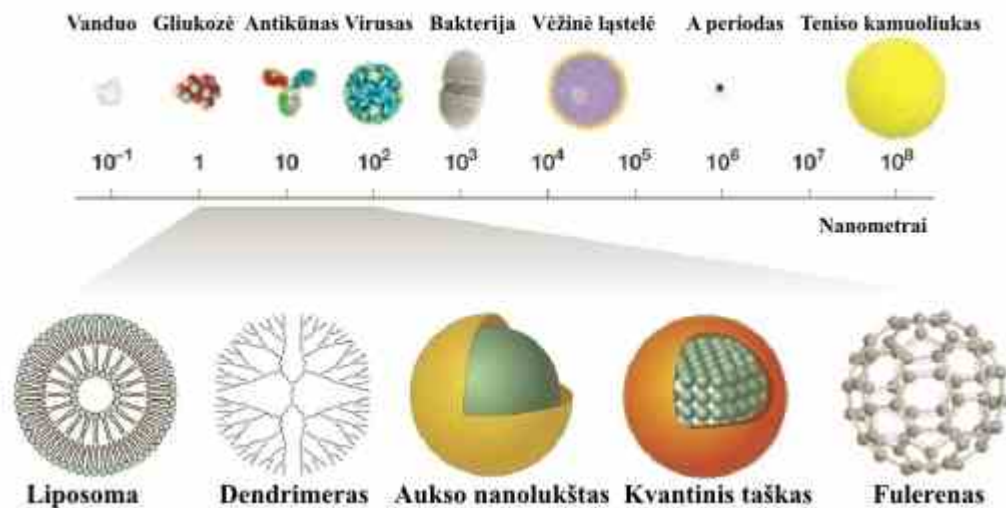
mažesnės už biologinių ląstelių membranų poras. Tai didžiulis pranašumas, kuris diagnostikai ir gydymui taikomas įvairiais būdais:

- į nanodalelių ertmę galima įterpti vaistus arba žymenis;
- nanodalelių paviršių galima įvairiai modifikuoti arba jungti su specifinėmis molekulėmis, kurios gali selektyviai nukreipti daleles į pasirinktą tikslą ląstelėje;
- nanodalelių porų dydį galima reguliuoti pagal poreikį selektyviai įsiurbti arba išleisti biologinius ar terapinius agentus.

Tinkamai modifikuoto paviršiaus ir mažesnės nei 50 nm nanodalelės patenka į ląsteles endocitozės būdu, o galimybė patekti į gyvą ląstelę – puiki klinikinės praktikos perspektyva, ypač onkologinėms ligoms gydyti.

Vaistams pernešti tinkama dalelė turi būti pakankamai maža, kad būtų išvengta filtracijos per blužnies filamentus ir fagocitozės (Chen ir Weiss, 1973). Mažos dalelės sąlygoja jų sąveiką su biomolekulėmis ant ląstelių paviršiaus ir viduje (Bogunia-Kubik ir Sugisaka, 2002). Sąveikos su receptoriais, nukleorūgštimis, transkripcijos faktoriais ir kitais signaliniais baltymais molekulių dydžių lygmeniu teikia informacijos, kuria remiantis, galima geriau suprasti sudėtingus informacijos perdavimo ir procesų reguliavimo tinklus, kurie valdo sveikų ir ligos pažeistų ląstelių veiklą.

Nanostruktūros gali būti gaminamos iš polimerų, keramikos, silicio arba sukuriamos dendritų ar liposomų pagrindu (7.4 pav.). Šios struktūros yra lankstesnės ir gali atlikti daugiau funkcijų. Patekusios į organizmą, nanodalelės nesukelia imuninio atsako. Galima sukurti tokias nanodaleles, kurių neveikia mikrobai. Jų nesuardo fermentai, todėl į daleles įterpti vaistai yra apsaugoti.



**7.4 pav.** Santykiniai nanodalelių dydžiai, palyginti su žinomų dydžių vienetais. Adaptuota pagal (McNeil, 2005)

*Liposomos* yra nanodalelės, sudarytos iš vandeninės terpės vidinės dalies, apgaubtos lipidų dv sluoksniu. Tokių junginių sintezei naudojamos amfifilinės molekulės yra panašios į biologines membranas, todėl jos naudojamos įvairių vaistų efektyvumo ir saugumo gerinimui (Hofheinz ir kt., 2005). Pagal dydį ir sluoksnių skaičių liposomos skirstomos į tris kategorijas: mažas vienasluoksnes, didelės vienasluoksnes ir daugiasluoksnes. Aktyvusis komponentas tokiuose dariniuose būna vidinėje vandeninėje terpėje, jei yra tirpus vandenyje, arba lipidinėje membranoje, jei yra tirpus lipiduose.

*Emulsijos* sudaro riebalų mikrodaleles, kurių dydį ir formą palaiko atitinkami surfaktantai, vandeninėje terpėje. Lipofilinės medžiagos tirpinamos organiniuose tirpikliuose ir suspenduojamos vandenyje. Kaip ir liposomos, emulsijos naudojamos įvairių junginių efektyvumo ir saugumo didinimui (Sarker, 2005).

*Polimerai*, pavyzdžiui, polisacharido chitino nanodalelės, jau naudojamos kaip vaistus pernešančios sistemos (Agnihotri ir kt., 2004). Pastaruoju metu sukurtos vandenyje tirpios polimerinės nanodalelių sistemos. Tai daugiausia polimerų–baltymų arba polimerų–vaistų konjugatai. Tokios polimerų–baltymų sistemos mažina imunogeniškumą, pailgina darinių gyvavimo trukmę kraujo plazmoje ir didina baltymų stabilumą. Polimerų ir vaistų dariniai padeda tikslingai nukreipti vaistus į taikinius navikuose (Lee, 2006).

*Keraminės nanodalelės* – neorganinės kilmės porėtos sistemos, taikomos vaistų pernašai (Cherian ir kt., 2000). Tokių nešiklių pagrindas yra keraminės silicio, titano ar aliuminio nanodalelės, jos taikomos vėžio gydymui. Svarbiausias jų trūkumas tas, kad tokios keraminės nanodalelės biologinėje terpėje neskyla, gali kauptis organizme ir sukelti nepageidaujamus šalutinius poveikius.

*Metalių nanodalelės*, tokios kaip geležies oksido dalelės (15–60 nm), naudojamos kaip aktyviu ar pasyviu transportu judantys tiksliniai agentai (Gupta ir Gupta, 2005). Tai klasė superparamagnetinių darinių, kurie gali būti dengti dekstrinu, fosfolipidais ar kitais junginiais, saugančiais nuo agregacijos ir gerinančiais stabilumą.

*Aukso nanolukštai* yra nauja sferinių metalinių nanodalelių grupė, kurią sudaro dielektrinė šerdis, apgaubta plonu aukso sluoksniu. Tokių dalelių optinės ir cheminės savybės yra labai tinkamos diagnostikos ir terapijos priemonėms (Hirsch ir kt., 2006).

*Anglies nanomedžiagos* priklauso fulerenai ir nanovamzdeliai. Fulerenai yra anglies alotropinė atmaina, kuriai būdinga iš 60 anglies atomų sudaryta poligoninė struktūra. Tokiose struktūrose yra nemažai surišimo centrų, prie kurių gali būti prijungti įvairiems taikiniams skiriami funkciniai ligandai (Bosi ir kt., 2003). Nanovamzdeliai pasižymi geru elektros laidumu ir yra ypač patvarus. Prijungus prie jų tinkamus funkcinis ligandus, jie gali būti geri vaistų molekulių nešikliai (Pagona ir Tagmatarchis, 2006).

*Kvantiniai taškai* yra puslaidininkinės nanodalelės, pasižyminčios specifinėmis optinėmis savybėmis, kurios naudojamos optinei biopsijai (Medintz ir kt., 2005). Neseniai kvantiniai taškai imti tirti kaip potencialūs fluorescenciniai žymenys navikų diagnostikai. Numatoma, kad jie padės ne tik aptikti naviką, bet ir labai tiksliai jį vaizdinti, nustatyti naviko rūšį ir galbūt paveikti jį toksiškai, sukeldami selektyvią navikinių ląstelių žūtį.

## **7.2. Navikų ypatybės ir antinavikinių vaistų pernaša**

Kuriant chemoterapinius vaistus, stengiamasi pasinaudoti tam tikromis navikinių darinių savybėmis, kurios padėtų antinavikiniam vaistui selektyviai kauptis navike arba ieškoma būdų, kaip selektyviai pažeisti gyvybines navikinių darinių funkcijas ir

nepakenkti aplinkiniams sveikiems audiniams. Ieškoma struktūrinių, genetinių, morfologinių navikinių darinių ypatybių ir būdų kaip, pasinaudojant šiomis ypatybėmis, pažeisti navikinius darinius kaip visumą arba selektyviai – navikines ląsteles.

Neoplazminiai audiniai gali būti suskirstyti į tris sritis: kraujagyslių, intersticinę (tarpaudininę) ir ląstelinę (Jain ir kt., 1987). Navikų vaskulizacija yra nehomogeniška, egzistuoja nekroziniai, hemoraginiai ir sutankėjusių kraujagyslių regionai, kurie vystosi, kad navikas būtų geriau aprūpinamas maisto medžiagomis ir deguonimi (angiogenezė) (Jain ir kt., 2001). Palyginti su fiziologiškai normaliomis kraujagyslėmis, navikų kraujagyslėms būdingi tokie pakitimai: daug proliferuojančių endotelinių ląstelių, didesnis vingiuotumas, mažesnis pericitų kiekis ir netaisyklingas membranų formavimasis (Seymour, 1992; Baban ir Seymour, 1998). Manoma, kad didesnę kraujo indų pralaidumą reguliuoja įvairūs tarpininkai, tokie kaip kraujagyslių endotelio ląstelių augimo faktorius (angl. *vascular endothelial growth factor* – VEGF), bradikininas, azoto monoksidas (NO), prostaglandinai ir matrikso metalų proteinazės (Maeda, 2001). Įrodyta, jog makromolekulių pernaša naviko indais vyksta per atvirus plyšius (tarpendotelines jungtis ir transendotelinius kanalus), kraujo indų vakuolių organelės (angl. *vesicular vacuolar organelles* – VVO) ir fenestracijas (Hobbs ir kt., 1998). Tačiau vienareikšmiško atsakymo, kuris iš šių būdų vyrauja ir labiausiai lemia navikų hiperpralaidumą ir makromolekulių pernašą per kraujagyslių sienelės, nėra. Kad ir koks yra pernašos mechanizmas, įvairių rūšių navikų modelių porų dydis svyruoja nuo 380 iki 780 nm (Hobbs ir kt., 1998; Yuan, 1995). Dėl šių savybių navikuose susikaupusių nanodalelių (pavyzdžiui, polimeru apgaubtų kvantinių taškų) koncentracija gali būti iki 100 kartų didesnė negu sveikuose audiniuose (Gu ir kt., 2007). Manoma, kad geriausiai per navikų mikrokraujagysles ekstravazuoja dalelės, kurių skersmuo mažesnis negu 200 nm.

Intersticinę naviko sritį sudaro kolageno ir elastino skaidulų tinklas. Šioje struktūroje pasklidę intersticinis skystis ir makromolekuliniai komponentai (hialuronatas ir proteoglikanai) sudaro hidrofilių gelį. Šiai sričiai, skirtingai nuo sveikų audinių, būdingas intersticinis slėgis, kuris sukuria jungiamojo intersticinio skysčio tėkmę į išorę; joje nėra anatomiškai aiškaus veikiančio limfinio tinklo. Taigi navikuose nėra geros limfos drenažo sistemos ir dėl to juose geriau kaupiasi makromolekulės ar nanodalelės.

Viena iš navikinių ligų gydymo strategijų – antinavikinių vaistų pernaša į navikines ląsteles susiduria su tokiomis problemomis:

- kaip naviko lygmeniu įveikti fiziologinį barjerą (neląsteliniai mechanizmai);
- kaip įveikti atsparumą vaistui ląstelėse (ląsteliniai mechanizmai);
- kaip kontroliuoti tolygų vaisto pasiskirstymą navikiniame darinyje, jo biotransformacijas ir pašalinimą iš organizmo.

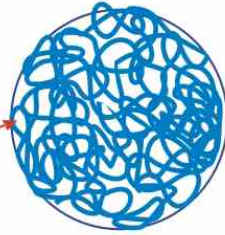
Neląsteliniai atsparumo vaistams procesai, matyt, susiję su prastai vaskulizuotomis naviko sritimis, dėl kurių vaistams sunkiau patekti į naviką ir taip apsaugomos navikinės ląstelės. Rūgštinė navikų aplinka gali priešintis bazinių vaistų poveikiui. Baziniai vaistai jonizuojami ir negali prasiskverbti pro membranas. Didelis intersticinis slėgis ir mažas slėgis smulkiosiose kraujagyslėse taip pat trukdo vaisto molekulių skverbimuisi (Krishna ir Mayer, 2000).

Navikų atsparumas vaistams galimas ir dėl ląstelių vyksmų, kuriuos sąlygoja pakitusi piktybinių ląstelių biochemija – tai gali būti pakitęs specifinių fermentų sistemų (pavyzdžiui, topoizomerazių) aktyvumas, sutrikusi apoptozės reguliacija ar pakitę pernašos procesai (Links ir Brown, 1999).

Naujausia gydymo strategija, padėsianti išvengti šių problemų ir padidinti vaistų selektyvumą ir efektyvumą, yra antinavikinių vaistų jungimas prie nanodalelių. Įvairiais sintezės metodais gali būti gaminamos nanosferos arba nanokapsulės (7.5 pav.). Nanosferose polimeriniame matrikse disperguotos vaisto molekulės, o nanokapsulėse vaisto molekulės yra vandens arba riebalų terpėje apgaubtos polimerine, metalo ar puslaidininkio membrana. Nanokapsulės yra tarsi vaistų rezervuarai. Nanodalelės veikia kaip vaistų nešikliai į taikinius navike ir apsaugo vaistus nuo priešlaikinės deaktyvacijos pernešimo metu. Intraveniškai į organizmą vartojamos dalelės gali kauptis navike dėl pasyvios difuzijos arba per pralaidžias naviko kraujagysles. Kaupimasis galimas ir per specifinį atpažinimą, jei prie nanodalelių yra prijungti atitinkami ligandai („tikslingas taikymas“). Kontroliuojamą vaistų pasklidimą naviko intersticinėje srityje galima pasiekti ir keičiant nanodalelių struktūrą: parenkant tinkamus polimerus ir atitinkamas vaisto ir nešiklio sąveikas (adsorbciją ar įterpimą į kapsules).

## Nanosfera

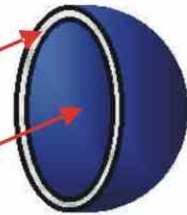
Polimerinė  
matrica



## Nanokapsulė

Polimerinė  
membrana

Ertmė vaistui



**7.5 pav.** Nanodalelės: nanosfera (matrica) ir nanokapsulė (rezervuaras). Adaptuota pagal (Couvreur ir kt., 1996)

### 7.3. Nanodalelių pernaša į navikinius audinius

**Įprastos nanodalelės.** Pirmą kartą vėžiui gydyti nanodalelės buvo panaudotos kaip liposomos, į kurias buvo inkorporuotas doksorubicinas. Dėl pasyvaus patekimo į naviką ir dėl to, kad mažiau toksiškas, tokio darinio gydymasis poveikis buvo stipresnis (Gabizon ir Martin, 1997). Liposomų paviršių apgaubus polietilenglikolio sluoksniu, jos sunkiau pagaunamos makrofagų ir geriau kaupiasi navikuose.

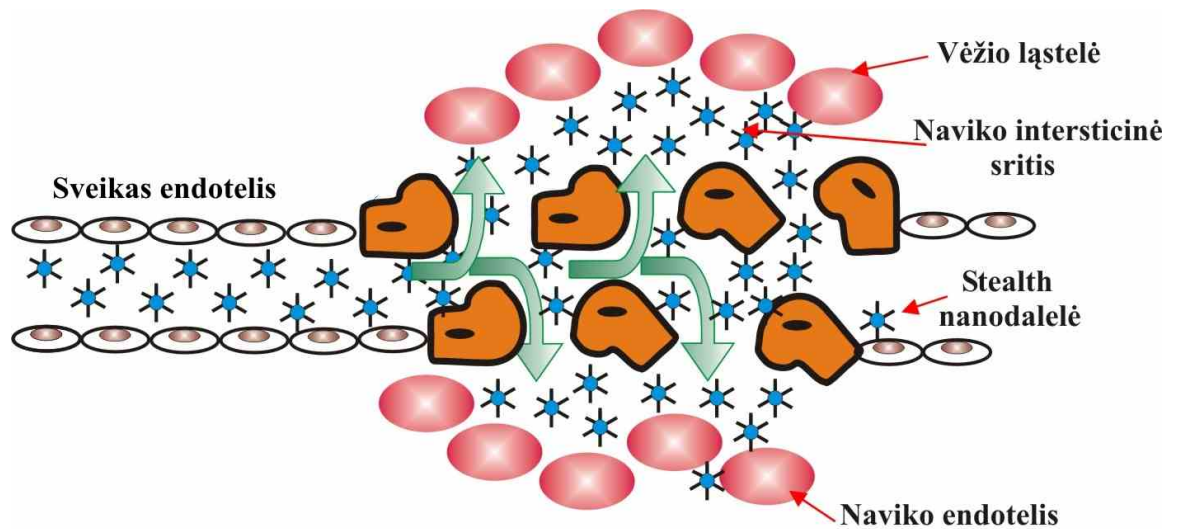
Citostatikų vartojimas su įprastais nešikliais keičia vaistų pasiskirstymą organizme, nes daugiausia jų patenka į monobranduolinių fagocitų sistemas (MFS), t. y. kepenis, blužnį, plaučius ir kaulų čiulpus. Atsidūrusios kraujotakoje, įprastos nanodalelės (tokios, kurių paviršius nemodifikuotas) greitai opsonizuojamos ir pašalinamos MFS organų makrofagų (Gabizon ir Martin, 1997). Įterpus doksorubiciną į poliizohexilcianoakrilato (PIHCA) nanosferas ir tokių dalelių suleidus pelėms, paaiškėjo, kad, palyginti su pelėmis, kurioms buvo suleista gryno doksorubicino, daugiausia vaisto susikaupė kepenyse, blužnyje ir plaučiuose (Verdun ir kt., 1990). Panašūs rezultatai gauti žiurkėms suleidus polimetilcianoakrilato (PMCA) nanosferų, ant kurių buvo adsorbuotas aktinomicinas D: didžiausi jo kiekiai aptikti žiurkių plaučiuose

(Brasseur ir kt., 1980). Tačiau tą patį vaistą įterpus į lėčiau skylančias polietilcianoakrilato (PECA) nanosferas, jis daugiausia kaupėsi plonosiose žarnose, o į to paties polimero nanosferas inkorporavus kitą citostatiką – vinblastiną, didžiausias jo kiekis aptiktas žiurkių blužnyse (Couvreur ir kt., 1980). Taigi tiek nanodalelių polimero savybės (cheminė sudėtis, hidrofobiškumas, biologinio skilimo būdas), tiek citostatiko savybės (molinė masė, krūvis, įterpimo į nanosferą būdas: adsorbcija ar inkorporavimas) turi didelę įtaką vaisto pasiskirstymui retikuloendoteliniuose organuose.

MFS makrofagų polinkis endocituoti (fagocituoti) gali būti naudojamas su įprastinėmis nanodalelėmis sujungtų vaistų transportavimui į šias ląsteles. Toks derinys labai naudingas chemoterapiniam MFS organų navikų (pavyzdžiui, hepatokarcinomos, virškinimo trakto ar reprodukcinio organų navikų metastazių kepenyse, bronchų pirminių navikų ar metastazių) gydymui.

Taigi įprastos nanodalelės gali sustiprinti antinavikinių vaistų veiksmingumą tik gydant MFS organuose lokalizuotus navikus. Kadangi įprastų nanodalelių vidutinė gyvavimo trukmė yra 3–5 min. po injekcijos, kad jie pateks į kitus navikinius audinius, nesitikima.

***Ilgai cirkuliuojančios nanodalelės.*** Įprastos nanodalelės, vos patekusios į organizmą, puola MFS organų makrofagai, todėl atsirado būtinybė kurti kitas nanodaleles, tokias, kurios nesunaikintos galėtų nunešti vaistus į navikus, esančius kituose organuose. Neseniai sukurtos dalelės, į kurias nereaguoja makrofagai (Storm ir kt., 1995). Tokios dalelės, pavadintos Stealth<sup>TM</sup>, gyvuoja kraujotakos sistemoje daug ilgiau (Stolnik ir kt., 1995). Todėl jos gali selektyviai ekstravazuoti pažeistose vietose (navikuose ar uždegimo srityse), kur kraujas indai pralaidesni (7.6 pav.) (Moghimi ir kt., 2001). Tikimasi, kad tokios ilgai cirkuliuojančios dalelės gali selektyviai patekti į navikus, esančius ne MFS organuose.



7.6 pav. Ilgai cirkuliuojančių Stealth<sup>TM</sup> nanodalelių ekstravazacija naviko intersticinėje srityje dėl pasyvios difuzijos arba konvekcijos per pralaidų naviko endotelį

Kad nanodalelės pasiektų tikslą ir būtų apsaugomos nuo makrofagų, labai svarbu, kokie yra koloidinių nešiklių dydžiai ir paviršiaus parametrai. Kad kuo mažiau būtų veikiamos opsonizacijos ir po jos vykstančios fagocitozės, dalelės turi būti mažos (<100 nm), o jų paviršius hidrofiliškas.

Naujas proveržis nanodalelių srityje prasidėjo dalelių paviršių ėmus aptraukti hidrofilišiais polimerais (polietilenglikoliu, polisacharidais ir kt.). Tokie apvalkalai sudaro dinamišką hidrofiliškus ir neutralių grandinių „debesėlį“ ant dalelės paviršiaus ir atstumia plazmos baltymus. Tobulinant ilgai cirkuliuojančius vaistų nešiklius, susiformavo dvi jų modifikavimo kryptys. Pirmoji – įprastinių nanodalelių aptraukimas paviršinio aktyvumo medžiagomis, antroji – kovalentinis amfifiliškus kopolimerų prijungimas, nes jie sudaro patvarų hidrofilišką nanodalelės apvalkalą ir apsaugo ją nuo greitos desorbcijos susidūrus su kraujui komponentais.

#### 7.4. Kvantiniai taškai ir jų savybės

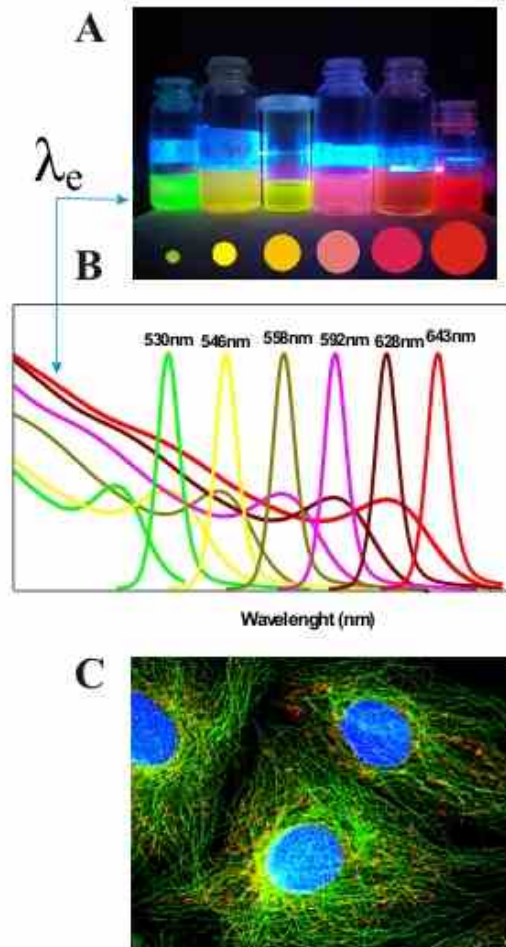
Terminas „kvantiniai taškai“ vartojamas nanometrų dydžio puslaidininkiniams dariniams vadinti. Taigi kvantiniai taškai – tai sferinės formos neorganiniai puslaidininkiniai kristalai, kurių skersmuo – nuo 1 iki 10 nm (Alivisatos, 1996; Sutherland, 2002). Šie dariniai pasižymi specifinėmis optinėmis ir elektroninėmis savybėmis, kurios priklauso nuo jų erdviųjų matmenų. Ši įdomi nanodydžio darinių savybė jau 20 metų yra intensyvių tyrinėjimų objektas. Nuo dalelių dydžio priklauso daugelis kvantinių taškų parametrų, o svarbiausia – fluorescencijos bangos ilgis. Keičiant dalelių cheminę sudėtį ir dydį, gaunami kvantiniai taškai, kurie fluorescuoja plačiu spektriniu ruožu – nuo 400 iki 2000 nm (Qu ir Peng, 2002; Zhong ir kt., 2003; Bailey ir Nie, 2003; Kim ir kt., 2003; Wehrenberg ir kt., 2002).

Kietajame kūne dėl periodinio gardelės potencialo pokyčio atsiranda draustinės energijos tarpų, t. y. susidaro zoninė struktūra. Kiekvienas elektronas kietajame kūne aprašomas De Broilio bangomis. Elektronų De Broilio bangos ilgis puslaidininkyje yra apie 100 nm. Jeigu elektrono judėjimas bent viena kryptimi apribotas, pasireiškia dydžio kvantavimo efektai ir gaunamas elektrono lygmenų kvantavimas. Puslaidininkio kristale, kurio dydis yra 5–20 nm, elektronas yra tarsi uždarytas kristalo tūryje, jo judėjimas visomis kryptimis apribotas. Tokie puslaidininkiniai nanodydžio kristalai vadinami dirbtiniais atomais arba kvantiniais taškais.

Puslaidininkių draustinė juosta yra gana siaura, todėl optinių kvantų energijos pakanka elektrono šuoliui iš valentinės į laidumo juostą. Sugėręs šviesos kvanto energiją elektronas peršoka iš valentinės į laidumo juostą, palikdamas laidumo juostoje skylę. Ši puslaidininkinio kristalo būseną yra nestabili ir elektronas sparčiai relaksuoja į laidumo juostos žemiausią lygmenį, o skylė atsiduria aukščiausioje valentinės juostos lygmenyje, atiduodami dalį sugertos energijos kristalo gardelei. Elektronas laidumo juostoje sąveikauja su skylė valentinėje juostoje. Dėl šios sąveikos susiformuoja eksitonai. Ši energinė būseną nėra pusiausviroji, tad sistema stengiasi pereiti į pusiausvirąją. Vienas iš būdų puslaidininkiniam kristalui sugrįžti į pusiausvirąją būseną yra rekombinacija, kurios metu elektronas grįžta į valentinę juostą, rekombinuoja su skylė ir dėl šio vyksmo išspinduliuojamas šviesos fotonas.

Kvantinių taškų optinės savybės yra unikalios ir labai tinkamos vėžio optinei biopsijai. Palyginti su optinėje diagnostikoje taikomais organinės kilmės dažikliais, fotosensibilizatoriais, egzogeniniais fluoroforais ir fluorescuojančiais baltymais, kvantinių taškų moliniai ekstinkcijos koeficientai yra 10–100 kartų didesni, todėl jie daug geriau švyti *in vivo*. Kvantinių taškų fotoluminescencijos kvantiniai našumai yra dideli, šviesos sugerties juostos plačios, o fluorescencijos siauros (juostų pusplotis yra 25–40 nm) ir apima spektro ruožą nuo UV iki artimosios infraraudonosios srities (7.7 pav.), taigi patenka į didžiąją „audinių optinio skaidrumo lango“ dalį. Todėl šviesa prasiskverbia į gilesnius audinių sluoksnius ir optinės biopsijos metu sumažėja savitosios fluorescencijos įtaka (Kim ir kt., 2005). Kvantiniams taškams būdingas didelis Stokso poslinkis – labai svarbi savybė medžiagoms, taikomoms *in vivo* vaizdinimui (Gao ir kt., 2004). Be to, puslaidininkiniai kvantiniai taškai pasižymi dideliu fotostabilumu ir atsparumu fotocheminei degradacijai.

Būtina pabrėžti dvi labai svarbias kvantinių taškų savybes, išskiriančias juos palyginti su įprastais fluoroforais, molekuliniais dažikliais ir fotosensibilizatoriais: kvantinių taškų fotoluminescencinės savybės priklauso ne tik nuo darinio cheminės sudėties, bet ir nuo kvantinio taško dydžio. Ši įdomi savybė – išspinduliuojamos šviesos bangos ilgio priklausomybė nuo dalelių dydžio – leidžia kurti naujos kartos reikiamo bangos ilgio šviesą spinduliuojančius fluorescencinius žymenis. Didelis kvantinių taškų fotostabilumas, vartojant juos kaip fluorescencinius žymenis, leidžia stebėti ląstelėse vykstančių procesų dinamiką.



**7.6 pav.** Kvantinių taškų optinės savybės. A. Nuo dalelių dydžio priklausanti kvantinių taškų fluorescencija. B. Plačios sugerties ir siauros fluorescencijos juostos. C. Kvantiniais taškais žymėtų ląstelių fluorescencijos vaizdai

Kadangi kvantinių taškų sugerties juostos yra plačios, o fluorescencijos – siauros, įvairių spalvų kvantinius taškus galima žadinti vienu šviesos šaltiniu, taip realizuojams daugiaspalvis ląstelės organelių vaizdinimas, jeigu skirtingai fluorescuojantys kvantiniai taškai kaupiasi skirtingose ląstelės organelėse (7.6 pav. C).

Neseniai kvantiniai taškai imti tirti ir kaip potencialūs fluorescenciniai žymenys navikų diagnostikai. Numatoma, kad jie padės ne tik aptikti naviką, bet ir labai tiksliai jį vaizdinti. Šiuolaikinė mokslo pažanga leidžia tikėtis, kad kvantiniai taškai greitai bus taikomi vienu metu ir vėžio diagnostikai, ir gydymui.

Šiuo metu kvantiniai taškai intensyviai tiriami siekiant taikyti juos navikinių audinių vaizdinimui *in vivo* ir tiriant vėžio ląstelių biologinius ir molekulinis vyksmus. Dėl savo išskirtinių savybių kvantiniai taškai gali būti naudojami tiek subląstelinio

lygmeniu, kai norima vaizdinti ląstelės struktūrą, jos sudėtinės dalis ar pažaidas, arba audinių lygmeniu, kai nustatomos audinio struktūros ypatybės arba vaizdinamos audinių pažaidos.

Naujausi tyrimai parodė, kad prie kvantinių taškų galima kovalentiškai prijungti biologinio atpažinimo molekules, pavyzdžiui, peptidus, antikūnus ar nukleorūgštis (Chan ir Nie 1998; Akerman ir kt., 2002; Bruchez ir kt., 1998), ir tokius darinius tikslingai nukreipti į taikinius ląstelėse ar audiniuose.

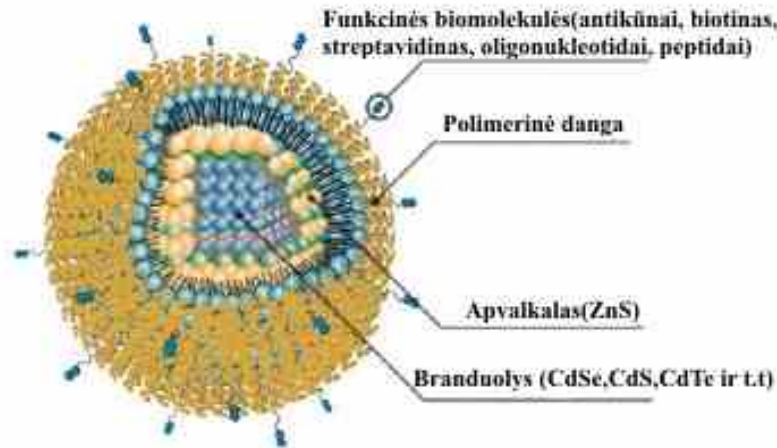
#### **7.4. Kvantinių taškų paviršiaus modifikacijos**

Šiuolaikinės cheminės sintezės ir gamybos technologijos įgalina pagaminti norimos formos bei dydžio kvantinius taškus. Labai preciziškai (nanometrų eilės tikslumu) kontroliuojant kvantinių taškų struktūrą, jų savybes galima reguliuoti taip, kad kvantiniai taškai tikėtų įterpti į biologines sistemas. Vandenyje netirpių kvantinių taškų paviršius modifikuojamas taip, kad padidėja jų tirpumas vandenyje, o svarbiausia – prie paviršiaus galima kovalentiškai prijungti ligandus, skirtus bioatpažinimui ar biosuderinamumui (7.7 pav.).

Biomedicinai taikomi kvantiniai taškai gaminami koloidų chemijos metodais. Reikiamo dydžio ir struktūros koloidiniai nanokristalai sintetinami gana paprastu būdu iš nesudėtingų pradinių darinių tirpiklių mišiniuose (Alivisatos, 1996; Murphy ir Coffey, 2002). Koloidų chemijos metodu galima susintetinti II ir VI (ZnS, ZnSe, CdS, CdSe, CdTe ir HgS) bei III ir V (GaAs, InP ir InAs) grupių elementų sferinės formos nuo 1 iki 10 nm dydžio kvantinius taškus (Qu ir Peng, 2002).

Kvantinių taškų prototipas yra kadmio selenidas (CdSe), nes šio puslaidininkio monodispersinių nanokristalų sintezės metodai gana seniai sukurti ir yra pakankamai tobuli. Tad iki šiol biomedicinoje plačiausiai taikomi CdSe kvantiniai taškai. CdSe kvantinių taškų branduolys paprastai yra apgaubiamas plonu ZnS arba CdS apvalkalu (7.7 pav.). Toks apvalkalas pašalina paviršiaus defektus ir apsaugo nuo nespindulinės rekombinacijos, todėl fluorescencijos kvantinis našumas padidėja iki 50 ir daugiau procentų (Hines ir Guyot-Sionnest, 1996). Apgaubimas ZnS kiautu pasyvuoja šerdies

paviršių, apsaugo kvantinį tašką nuo išorinio biologinės terpės poveikio, saugo nuo oksidacijos, taip pat sulaiko  $\text{Cd}^{2+}$  ir  $\text{Se}^{2-}$  jonus, kad kuo mažiau jų patektų į organizmą.



**7.7 pav.** Daugiafunkcio kvantinio taško struktūra

Jau susintetinti ZnS, CdS, ZnSe, CdTe ir PbSe kt., liuminescuojantys šviesą nuo UV iki IR spektro srities. Tačiau, norint kvantinius taškus naudoti kaip fluorescencinius žymenis optinėje biopsijoje, reikia:

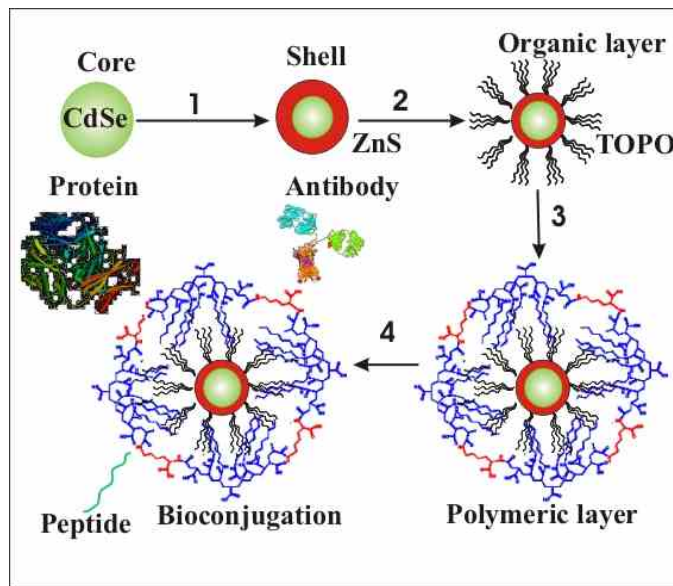
- susintetinti aukštos kokybės nanodaleles, kurias galima suspenduoti vandens terpėje;
- parengti tokią kvantinių taškų paviršiaus modifikavimo metodiką, kuri įgalintų prie nanokristalo prijungti biologines makromolekules ir nepakenkti kvantinių taškų optinėms savybėms.

Kad kvantinius taškus būtų galima suspenduoti vandenyje, jų paviršiui reikia suteikti hidrofilinių savybių. Hidrofilškumas suteikiamas įvairiais paviršiaus modifikavimo metodais. Vienas iš jų, kai hidrofobiniai paviršiaus ligandai pakeičiami bifunkciais ligandais, tokiais kaip merkaptactorūgštis, kurioje yra tiolio grupė, gerai sukimbanti su kvantinių taškų paviršiumi, ir į išorę nukreipta hidrofilinė karboksilo ar kitokia funkcinė grupė (Chan ir Nie, 1998).

Kitas paviršiaus modifikavimo būdas pagrįstas koordinacinio ligando (pavyzdžiui, trioktilfosfino oksido (TOPO)) sąveika su amfifiliniu polimeru (7.8 pav.) (Wu ir kt., 2003; Dubertret ir kt., 2002). Polimeruose yra alkilinių grupių, kurios sąveikauja su

hidrofobinėmis TOPO grupėmis ir hidrofilinių karboksilo grupių, kurios yra nukreiptos į išorę. Šis metodas yra pranašesnis, nes, taikant jį, galima geriau išsaugoti kvantinių taškų optines savybes, tačiau taip gaunamos didesnės kvantinių taškų dalelės.

Kad kvantinius taškus būtų galima taikyti biologiniams ir medicininiams tyrimams, jų paviršių reikia papildomai apdengti biomolekulėmis taip, kad būtų išsaugotas jų aktyvumas ir kvantinių taškų spektrinės savybės. Sintetinant tokius biokonjugatus, dažniausiai prie karboksilo liekanų kovalentiniu ryšiu prijungiamos įvairios biomolekulės, pavyzdžiui, peptidai, baltymai ar nukleorūgštys (7.8 pav.). Tokie dariniai tikslingai nukreipiami į taikinius ląstelėse ar audiniuose. Vienas iš naujausių laimėjimų – naujos klasės daugiafunkčių kvantinių taškų, turinčių specifinio kaupimosi navikuose ir vaistų pernašos savybių, kūrimas. Jau sukurti tokie kvantiniai taškai, kurių apvalkalai savaiminės saviorganizacijos būdu apgaubia jų branduolius taip, kad jų optinės savybės (sugerties ir fluorescencijos spektrai, fluorescencijos kvantinis našumas) išlieka nepakitusios net ir labai pasikeitus aplinkos sąlygoms (Gao ir kt., 2004).



**7.8 pav.** Biokonjuguotas kvantinis taškas, apgaubtas ligandais, nukreipiančiais jį į naviką diagnostikos arba gydymo tikslais

Naujų junginių nuolat daugėja, siekiama sukurti biologinei terpei tinkamas vandenines dispersijas, todėl sintetinės vis naujos kvantinių taškų modifikacijos. Deja, daugelis jų dažnai kuriamos siekiant labai specifinių tikslų ir dėl to negali būti plačiai taikomos (Medintz ir kt., 2005). Taigi, kad kvantiniai taškai būtų tinkami juos tikslingai taikyti *in vivo*, jų paviršiaus modifikavimo strategija turi būti labai gerai apgalvota. Svarbiausia, reikia išspręsti keletą bendrų problemų. Šiuo metu sintetinių konjuguotų nanodalelių trūkumas tas, kad vienai dalelei tenkantis ligandų skaičius yra labai skirtingas. Be to, paprastai nėra žinoma tikslių ligandų erdvinė orientacija (Vu ir kt., 2005) ir gali būti, kad dalis nanodalelių yra nefunkcionalios. Tad užduotis susintetinti kuo mažesnius kvantinius taškus su apibrėžtu kiekiu tikslių ligandų, kurie nukreiptų juos į norimą taikinį, vis dar lieka mokslininkams rimtas iššūkis.

#### **7.5. Kvantiniai taškai ir daigafunkcės nanodalelės – nauji fluorescenciniai žymenys navikų optinei biopsijai**

Su biologinėmis molekulėmis sujungtų kvantinių taškų dydis yra panašus į gerai žinomų vaizdinimo žymenų – fluorescencinio baltymo molekulių, tačiau gerokai pranoksta jų fotofizikines savybes, o tinkamai modifikuoto paviršiaus kvantinius taškus galima nukreipti į norimą taikinį, nes jie atrankūs ir selektyvūs. Pastaruosius keletą metų kvantiniai taškai tiriami kaip potencialūs fluorescenciniai žymenys įvairiems biomedicininiais tikslams, kuriems įprastinių organinių žymenų taikymas buvo neveiksmingas. Kvantinių taškų spektroskopinės galimybės pranoko visus lūkesčius, imtas tirti jų taikymas vėžinių ligų *in vivo* diagnostikai.

Pirmą kartą kvantinių taškų injekcija laboratoriniams gyvūnams buvo padaryta 2002 m., tada ir paaiškėjo nespecifinės fagocitozės problemos (Akerman ir kt., 2002). Atliekant tyrimus *ex vivo*, žaliai arba raudonai fluorescuojantys (CdSe)ZnS kvantiniai taškai buvo suleisti pelėms į veną. Kvantiniai taškai, prie kurių prijungti konkrečiam audiniui specifiniai peptidai, buvo nukreipti į plaučių kraujagysles, naviko kraujagysles ir naviko limfinius indus. Audinių mėginių fluorescenciniai tyrimai parodė, kad kvantiniai taškai gerai kaupėsi numatytuose taikiniuose, tačiau dalis kvantinių taškų kaupėsi ir nespecifiškai.

Kiek vėliau buvo paskelbti rezultatai tyrimų, kurių metu pavyko užfiksuoti pelėms įskiepyto žmogaus prostatos naviko raudoną fluorescenciją (Gao ir kt., 2004). Kvantiniai taškai navikuose kaupėsi tiek pasyvaus, tiek ir aktyvaus kaupimosi būdu. Pasyvaus kaupimosi esmė yra ta, kad navikiniai dariniai dažniausiai turi pažeistą kraujotakos sistemą, todėl kvantiniai taškai linkę kauptis joje (Jain, 1999; Jain, 2001). Aktyvios pernašos esmė kiek kitokia: prie kvantinių taškų yra jungiami specifiniai antikūnai, kurie Paskleidžia juos tiksliai ten, kur yra specifinis antigenas.

CdSe/ZnS kvantiniai taškai buvo apgaubti apsauginiu koordinacinio ligando TOPO ir amfifilinio polimero sluoksniu. Dėl stiprios hidrofobinės sąveikos tarp TOPO molekulių ir polimero angliavandenilinių grupių šie du sluoksniai stipriai sukimba ir sudaro hidrofobinės prigimties struktūrą, saugančią kvantinį tašką nuo hidrolizės, fermentų ir kitokio biologinio *in vivo* sąlygomis poveikio. Taigi tokių kvantinių taškų, dar papildomai apgaubtų polietilenglikolio (PEG) sluoksniu, optinės savybės išlieka nepakitusios net ir drastiškai kintant aplinkos pH ar druskų koncentracijai. Siekiant, kad kvantiniai taškai kauptųsi aktyvios pernašos būdu, prie jų buvo jungiami prostatos membranai specifiniai monokloniniai antikūnai (Gao ir kt., 2004). Buvo apskaičiuota, kad aplink kiekvieną kvantinį tašką yra maždaug 200 TOPO, 4–5 polimero, 5–6 PEG ir 5–6 antikūno molekulių. Su antikūnais sujungtus kvantinius taškus pernešė ir navike kauptis padėjo ksenografai, bet nespecifinis jų kaupimasis buvo pastebėtas ir kepenyse bei blužnyje.

Navikų vaizdinimo *in vivo* rezultatai patvirtino, kad kvantiniai taškai navikuose kaupiasi ir pasyviu, ir aktyviu būdu, tačiau pastarasis daug greitesnis ir efektyvesnis. Fluorescenciniam naviko vaizdinimui pasyvaus kaupimosi būdu reikėjo 6 nmol kvantinių taškų ir teko laukti 24 val., o naudojant TOPO apvaskalų apdengtus su prijungtais PEG ir antikūnų ligandais kvantinius taškus, pakako 0,4 nmol ir fluorescencinis vaizdas buvo matomas jau po dviejų valandų. (Gao ir kt., 2004).

CdTeMnHg nanokristalai, apgaubti jaučio serumo albumino kiautu, buvo tirti kaip artimoje infraraudonojoje srityje fluorescuojantis žymuo kraujagyslėms vaizdinti (Morgan ir kt., 2005). Buvo matomos maždaug 100  $\mu\text{m}$  skersmens kraujagyslės, esančios kelių šimtų mikronų gylyje. Taip pat buvo parodyta, kad navikas švytėjo būtent dėl gerai išsivysčiusio kraujo kapiliarų tinklo.

Optinė biopsija, dažnai vadinama ir optiniu vaizdinimu, yra labai jautrus metodas, tačiau jo taikymą *in vivo* sunkina ribotas šviesos skvarbumas į audinius ir informacijos apie sveiką ir naviko pažeistų audinių spektrines savybes trūkumas. Taigi kvantinių taškų, fluorescuojančių artimojoje infraraudonojoje spektro srityje, taikymas optinei biopsijai padėtų spręsti šias problemas – padidintų šviesos skvarbumą į gilesnius audinių sluoksnius ir pagerintų vaizdinimo jautrumą. Naujos tikslinės daugiafunkcės nanostruktūros po išsamių eksperimentinių ir klinikinių tyrimų taps patikima ir efektyvi priemonė diagnozuojant ir vaizdinant navikus *in vivo*.

### **Literatūra**

Akerman M.E., W.C.W. Chan, P. Laakkonen, S.N. Bhatia, E. Ruoslati (2002) Nanocrystal targeting in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 12617–12621.

Alivisatos A.P. (1996) Perspectives on the physical chemistry of semiconductor nanocrystals. *J. Phys. Chem.*, 100, 13226–13239.

Baban D., L.W. Seymour (1998) Control of tumor vascular permeability. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 34, 109–119.

Bailey R.E., S.M. Nie (2003) Alloyed semiconductor quantum dots: Tuning the optical properties without changing the particle size. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 7100–7106.

Bakalova R., H. Ohba, Z. Zhelev, M. Ishikawa, Y. Baba (2004) Quantum dots as photosensitizers? *Nature Biotechnol.*, 22, 1360–1361.

Bogunia-Kubik K., M. Sugisaka (2002) From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems*, 65, 123–128.

Bosi S., T. Da Ros, G. Spalluto, M. Prato (2003) Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications. *Eur. J. Med. Chem.*, 38, 913–923.

Brasseur F., P. Couvreur, B. Kante et al (1980) Actinomycin D adsorbed on polymethylcyanoacrylate nanoparticles: increased efficiency against an experimental tumor. *Eur. J. Cancer*, 10, 1441–1445.

Bruchez M., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A.P. Alivisatos (1998) Semiconducting nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*, 281, 2013–2016.

Chan W.C.W., S.M. Nie (1998) Quantum dots bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, 281, 2016–2018.

Chen L.T., L. Weiss (1973) The role of the sinus wall in the passage of erythrocytes through the spleen. *Blood*, 41, 529–537.

Cherian A.K., A.C. Rana, S.K. Jain (2000) Self-assembled carbohydrate-stabilized ceranic nanoparticles for the parenteral delivery of insulin. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26, 459–463).

Couvreur P., J.-P. Couarraze, F. Devissaguet, F. Puisieux (1996) Nanoparticles: preparation and characterization. In: S. Benita (editor) *Microencapsulation: methods and industrial application*. New York, 183–211.

Couvreur P., B. Kante, V. Lenaerts et al (1980) Tissue distribution of antitumor drug associated with polyalkylcyanoacrylate nanoparticles. *J. Pharm. Sci.*, 69, 199–202.

Dolmans D.E., D. Fukumara, R. K. Jain (2003) Photodynamic therapy for cancer. *Nature Publishing Group*, 2003, 3, 380–387.

Dubertret B, P. Skourides, D.J. Norris (2002) *In vivo* imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*, 298, 1759–1762.

Gabizon A., F. Martin (1997) Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours. *Drugs*, 54, 15–21.

Gao X.H., Y.Y. Gui, R.M. Levenson, L.W.K. Chung, S.M. Nie (2004) *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.*, 22, 969–976.

Gu F.X., R. Karnik, A.Z. Wang, F. Alexis, E. Levy-Nissenbaum, S. Hong, R.S. Langer, O.C. Farokhzad (2007) Targeted nanoparticles for cancer therapy. *Nanotoday*, 2, 14–21.

Gupta A.K., M. Gupta (2005) Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26, 3995–4021.

Hines M.A., P. Guyot-Sionnest (1996) Synthesis and characterization of strongly luminescing ZnS-capped CdSe nanocrystals. *J. Phys. Chem.*, 100, 468–471.

Hirsch L.R., A.M. Gobin, A.R. Lowery, F. Tam., R.A. Drezek, N.J. Halas et al (2006) Metal nanoshells. *Ann. Biomed. Eng.*, 34, 15–22.

Hobbs S.K., W.L. Monsky, F. Yuan, W.G. Roberts, L. Griffith, V.P. Torchilin, R.K. Jain (1998) Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 4607–4612.

Hofheinz R.D., S.U. Gnad-Vogt, U. Beyer, A. Hochhaus (2005) Liposomal encapsulated anti-cancer drugs. *Anticancer Drugs*, 16, 691–707.

Jain R.K. (1987) Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res.*, 47, 3039–3051.

Jain R.K. (1999) Transport of molecules, particles and cells in solid tumors. *Ann. Rev. Biomed. Eng.*, 1, 241–263.

Jain R.K. (2001) Delivery of molecular medicine to solid tumors: lessons from *in vivo* imaging of gene expression and function. *J. Control Release*, 74, 7–25.

Kim S., B. Fisher, H.J. Eisler, M. Bawendi (2003) Type-II quantum dots: CdTe/CdSe(core/shell) and CdSe/ZnTe(core/shell) heterostructures. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 11466–11467.

Krishna R., L.D. Mayer (2000) Multidrug resistance (MDR) in cancer – mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur. J. Cancer Sci.*, 11, 265–283.

Lee L.J. (2006) Polymer nano-engineering for biomedical applications. *Ann. Biomed. Eng.*, 34, 75–88.

Links M., R. Brown (1999) Clinical relevance of the molecular mechanisms of resistance to anti-cancer drugs. *Expert. Rev. Mol. Med.*, 1, 1–21.

Maeda H. (2001) The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: the key role of tumor – selective macromolecular drug targeting. *Adv. Enzyme Regul.*, 41, 189–207.

McNeil S.E. (2005) Nanotechnology for the biologist. *J. Leuk. Biol.*, 78, 585–594.  
Medintz I.L., H.T. Uyeda, E.R. Goldman, H. Mattoussi (2005) Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nature Materials*, 4, 435–446.

Moghimi S.M., A.C. Hunter, J.C. Murray (2001) Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacol. Rev.*, 53, 283–318.

Morgan N.T., S. English, W. Chen, V. Chernomordik, A. Russo, P.D. Smith, A. Gandjbakhche (2005) Real time *in vivo* non-invasive optical imaging using near-infrared fluorescent quantum dots. *Acad. Radiol.*, 12, 313–323.

Murphy C.J., J.L. Coffey (2002) Quantum dots: a primer. *Appl. Spectrosc.*, 56, 16A–27A.  
Pagona G., N. Tagmatarchis (2006) Carbon nanotubes: materials for medicinal chemistry and biotechnological applications. *Curr. Med. Chem.*, 13, 1789–1798.

Qu L.H., X.G. Peng (2002) Control of photoluminescence properties of CdSe nanocrystals in growth. *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 2049–2055.

Rotomskis R., G. Streckytė, L. Gričiūtė (2002) Fotosensibilizuota navikų terapija: pirminiai vyksmai. Vilnius, Lietuvos mokslas, 278.

Samia A.C.S., X. Chen, C. Burda (2003) Semiconductor quantum dots for photodynamic therapy. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 15736–15737.

Sarker S.A. (2005) Engineering of nanoemulsions for drug delivery. *Curr. Drug Deliv.*, 2, 297–310.

Seymour L.W. (1992) Passive tumor targeting of soluble macromolecules and drug conjugates. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 9, 135–187.

Stolnik S., L. Illum, S.S. Davis (1995) Long circulating microparticulate drug carriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 16, 195–214.

Storm G., S.O. Belliot, T. Daemen, D.D. Lasic (1995) Surface modification of nanoparticles to oppose uptake by the mononuclear phagocyte system. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 17, 31–48.

Sutherland A.J. (2002) Quantum dots as luminescent probes in biological systems. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, 6, 365–370.

Verdun C., F. Brasseur, H. Vranckx, et al (1990) Tissue distribution of doxorubicin associated with polyhexylcyanoacrylate nanoparticles. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 26, 13–18.

Vu T.O., R. Maddipati, T.A. Blute, B.J. Nehilla, L. Nusblat, T.A. Desay (2005) Peptide-conjugated quantum dots activate neuronal receptors and initiate downstream signalling of neurite growth. *Nano Lett.*, 5, 603–607.

Wehrenberg B.L., C.J. Wang, P. Guyot-Sionnest (2002) Interband and intraband optical studies of PbSe colloidal quantum dots. *J. Phys. Chem. B.*, 106, 10634–10640.

Wu X.Y., H.J. Liu, J.Q. Liu (2003) Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol.*, 21, 41–46.

Yuan F., M. Dellian, D. Fukumura, M. Leuning, D. Berk, V.P. Porchilin, R.K. Jain (1995) Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size. *Cancer Res.*, 55, 3752–3756.

Zhong X.H., Y.Y. Feng, W. Knoll, M.Y. Han (2003) Alloyed  $\text{Zn}_x\text{Cd}_{1-x}\text{S}$  nanocrystals with highly narrow luminescence spectral width. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 13559–13563.