

**NIEORGANICZNE NANOCZĄSTKI W MEDYCYNIE
NUKLEARNEJ**

**INORGANIC NANOPARTICLES IN NUCLEAR
MEDICINE**

Agata Kasperek, Aleksander Bilewicz

*Instytut Chemii i Techniki Jądrowej, Centrum Radiochemii i Chemii Jądrowej
ul. Dorodna 16, 03-195 Warszawa
e-mail: a.kasperek@ichtj.waw.pl*

Abstract

Wstęp

1. Charakterystyka nanocząstek stosowanych w medycynie
2. Mechanizmy kumulowania się nanocząstek w zmienionych chorobowo tkankach – transport bierny i czynny
 - 2.1. Transport bierny
 - 2.2. Transport czynny
3. Struktury nanocząstek nieorganicznych
 - 3.1. Nanocząstki złota
 - 3.2. Nanocząstki tlenku żelaza
 - 3.3. Kropki kwantowe
 - 3.4. Nanozeolity
 - 3.5. Nanocząstki srebra

Podsumowanie i perspektywy na przyszłość

Piśmiennictwo cytowane



Mgr Agata Kasperek ukończyła Wydział Chemiczny Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie w 2006 roku. Od stycznia 2010 roku jest doktorantką w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie. Tematyka jej pracy doktorskiej jest związana z wykorzystaniem nanozeolitów jako nośników radionuklidów i ich potencjalnym zastosowaniem w celowanej terapii radionuklidowej.



Prof. dr hab. Aleksander Bilewicz ukończył studia na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Warszawskiego w 1976 roku. Po studiach rozpoczął pracę w Instytucie Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, gdzie obecnie jest zatrudniony na stanowisku profesora. W 1986 roku obronił pracę doktorską, której tematyka dotyczyła wymiany jonowej na nieorganicznych sorbentach. W 1998 roku uzyskał stopień dra habilitowanego na podstawie pracy o wpływie efektów relatywistycznych na własności transaktynowców. W 2007 roku otrzymał tytuł profesora. Aktualnie jego zainteresowania naukowe koncentrują się na otrzymywaniu nowych radiofarmaceutyków dla medycyny nuklearnej, szczególnie dla α -immunoterapii.

ABSTRACT

Rapid and widespread growth in the use of nuclear medicine for both diagnosis and therapy of disease has been the driving force for a design of novel radiopharmaceuticals. Particularly, recent progress in nanotechnology gives the possibility of designing new carriers for delivering radionuclides in a manner to overcome some limitation such as nonspecific biodistribution and targeting, water insolubility, poor oral bioavailability and others. There are several perspective therapeutic and diagnostic radionuclides which cannot be bound to biomolecule *via* chemical bonds. Nanocarriers gives the opportunity for binding such radionuclides.

Nanoparticles have to be designed with an optimal size (above 100 nm) and surface characteristic to easily penetrate the barriers in the body and prevent elimination by reticuloendothelial system. Among nanoparticles which are used for delivery and targeting are polymers, lipids, viruses, organometallic compounds, precious metals or metal oxides.

This article presents a brief review of the applications, advantages, difficulties and future perspective of inorganic nanoparticles, which can be used as radionuclide delivery systems. The main direction of developing new nanostructures for nuclear medicine is to create multimodal agents which are suitable for such combined methods as PET/MRI or PET/NIRF. Also combination of diagnostic and therapeutic agents in one nanocontainer is possible.

Keywords: nanoparticle, nuclear medicine, drug delivery system, drug carriers,

Słowa kluczowe: nanocząstki, medycyna nuklearna, system transportu leków, nośniki leków

WSTĘP

Następujący w ostatnich latach gwałtowny rozwój metod diagnostyki medycznej, a szczególnie medycyny nuklearnej pozwala wykrywać zmiany patologiczne, zwłaszcza nowotworowe, w bardzo wczesnym stadium ich rozwoju, a zatem rozpoczynać leczenie znacznie wcześniej niż przy stosowaniu klasycznych metod diagnostycznych. Dzięki temu diagnostyczne metody medycyny nuklearnej szczególnie pozytonowa tomografia (PET) – są dziś niezastąpionym narzędziem lekarza, zarówno diagnosty, jak i terapeuty, który łatwo może kontrolować przebieg procesu leczenia [1].

Także toksyczny efekt promieniowania jonizującego, znany już od czasu odkrycia promieniotwórczości przez Henri Bequerela i małżonków Curie, znalazł zastosowanie medyczne. Rutynową metodą leczenia nowotworów jest naświetlanie chorych tkanek zewnętrznymi źródłami promieniowania. Metoda ta ma jednak wiele ograniczeń takich jak konieczność dokładnej lokalizacji guzów, niemożność leczenia bardzo drobnych i rozsianych przerzutów, czy duże deponowanie dawki promieniowania na sąsiednich zdrowych tkankach. Aby uniknąć tych ograniczeń, w ostatnich latach, opracowano alternatywną metodę celowanej radioterapii, w której naświetlanie chorej tkanki następuje poprzez nakierowany na nią radionuklid.

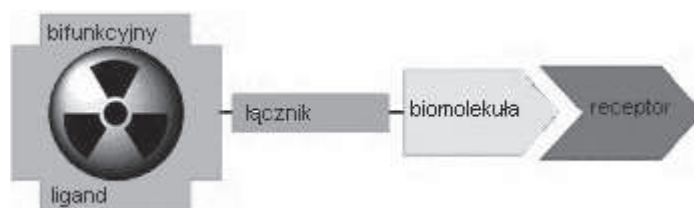
Zarówno w diagnostyce, jak i terapii aby selektywnie nakierować radionuklid na chorą tkankę musi być on przyłączony chemicznie do tzw. wektora – substancji biologicznie aktywnej wykazującej powinowactwo do chorobowo zmienionych komórek. W zależności od tego czy dany radiofarmaceutyk będzie miał zastosowanie diagnostyczne czy terapeutyczne, radioizotop wchodzący w jego skład powinien charakteryzować się odpowiednimi właściwościami radiochemicznymi. W diagnostyce pojedynczego fotonu (SPECT) stosowane są radionuklidy emitujące promieniowanie gamma, o energii zawierającej się najlepiej w zakresie 100–250 keV, zaś w metodzie PET wykorzystuje się radionuklidy emitujące cząstki β^+ , które anihilując z napotkanymi elektronami powodują powstanie dwóch fotonów o energii 511 keV, emitowanych pod kątem 180° [2]. Zarówno fotony emitowane przez emitery γ , jak i powstałe z anihilacji cząstek β^+ kwanty gamma mają możliwość przenikania przez tkanki i mogą być rejestrowane przez odpowiednie detektory na zewnątrz organizmu. Celem podawania pacjentom radiofarmaceutyków diagnostycznych jest uzyskanie obrazu morfologicznego chorego organu, a także zbadanie czynności tkanki lub narządu, w którym zgromadził się radionuklid. Często również radiofarmaceutyki diagnostyczne używane są do planowania terapii oraz monitorowania efektywności wybranej metody leczenia [3, 4].

W radioterapii wewnętrznej wykorzystuje się radionuklidy, emitery promieniowania korpuskularnego, które przyłączone do cząsteczek biologicznie aktywnych selektywnie akumulują się w chorej tkance. Wyjątkową zaletą „celowanej” radioterapii jest możliwość niszczenia chorych tkanek bez uszkodzania zdrowych. Ma to szczególne znaczenie w przypadku małych guzów nowotworowych we wczesnym stadium rozwoju, a także drobnych przerzutów nowotworowych. Ograniczeniem

zastosowania „celowanej” radioterapii jest konieczność znalezienia odpowiednich receptorów na komórkach nowotworowych oraz cząsteczek biologicznie aktywnych wykazujących powinowactwo do tych receptorów. Jednakże według ostatnich danych literaturowych [5] można się spodziewać znalezienia dla mniej więcej połowy rodzajów nowotworów odpowiednich cząsteczek biologicznie aktywnych, które mogą być wykorzystane w „celowanej” radioterapii.

W zależności od wielkości chorej tkanki, tak dobiera się radionuklid, aby efekt terapeutyczny był optymalny. I tak dla dużych guzów nowotworowych najodpowiedniejsze okazały się radionuklidy emitujące wysokoenergetyczne promieniowanie β^- (^{90}Y , ^{188}Re). Jednak medycyna nuklearna zgłasza także duże zapotrzebowanie na radiofarmaceutyki wykazujące efekt terapeutyczny w stosunku do małych zmian nowotworowych rozsianych na dużej powierzchni tkanki, przerzutów nowotworowych lub nowotworów we wczesnym stadium rozwoju. Te warunki mogą spełniać emitory miękkiego promieniowania β^- , elektronów Augera oraz emitory promieniowania α .

Nowoczesne radiofarmaceutyki receptorowe składają się z 4 części (Rys. 1): radionuklidu, bifunkcyjnego liganda, cząsteczki łączącej ligand z biomolekułą (linkera) oraz biomolekuły. Radionuklid, gdy jest kationem metalu, jest związany z chelatowym ligandem bifunkcyjnym, który poprzez cząsteczkę linkera łączy się z biomolekułą.



Rysunek 1. Schemat nowoczesnego radiofarmaceutyku receptorowego
Figure 1. Scheme of the modern receptor radiopharmaceutical

Biomolekułą może stanowić przeciwciało monoklonalne, jego fragment lub peptyd mający powinowactwo do receptorów komórek nowotworowych. Dzięki temu, po wprowadzeniu radiofarmaceutyku do organizmu, biomolekuła zachowuje się jak wektor, który kieruje radiofarmaceutyk do komórek nowotworowych i wiąże się z ich receptorem.

Celowana terapia radionuklidowa jest bardzo dynamicznie rozwijającą się dziedziną. Istnieje wiele prac przeglądowych, w których zostały szczegółowo omówione terapeutyczne i diagnostyczne radiofarmaceutyki [2–8]. Przy projektowaniu nowych radiofarmaceutyków głównym zadaniem dla chemika jest opracowanie metody, za pomocą której można trwale związać izotop promieniotwórczy oraz połączyć go z biomolekułą. Przeważająca większość radionuklidów stosowanych w radiofarmacji to metale, które mają zdolność do tworzenia trwałych związków kompleksowych. Związane są one z biomolekułą zazwyczaj przez multidentne,

głównie poliamino-polikarboksyłowe liniowe, bądź cykliczne ligandy [9]. Także przyłączenie radionuklidów z grupy fluorowców takich jak ^{18}F , $^{76,77}\text{Br}$, $^{123,124,125,131}\text{I}$ nie nastręcza większych trudności. Istnieją jednak radionuklidy, które posiadają bardzo atrakcyjne dla medycyny nuklearnej właściwości jądrowe, jednakże nie tworzą one trwałych połączeń kompleksowych. Do tej grupy można zaliczyć diagnostyczne radionuklidy takie jak ^{201}Tl , $^{82\text{m},83}\text{Rb}$ czy, ^{83}Sr , które jako kationy pierwszej i drugiej grupy nie tworzą wystarczająco trwałych połączeń chelatowych. Podobnie trudno jest związać z biomolekułą bardzo atrakcyjne radionuklidy terapeutyczne takie jak β^- emitery ^{111}Ag , $^{198,199}\text{Au}$ czy α emitery ^{211}At , $^{223,224}\text{Ra}$.

Większość α emitentów w wyniku rozpadu tworzy inne stosunkowo długożyjące radionuklidy i utrzymanie takich par w związku kompleksowym jest bardzo trudne ($^{212}\text{Pb} \rightarrow ^{212}\text{Bi}$, $^{225}\text{Ac} \rightarrow ^{213}\text{Bi}$ czy $^{230}\text{U} \rightarrow ^{226}\text{Th}$). Dlatego też, poszukuje się innych rozwiązań pozwalających trwale związać wymienione radionuklidy.

Tu z pomocą przychodzi nanotechnologia. Wykorzystując nanocząstki można związać niektóre radionuklidy, które nie tworzą trwałych związków kompleksowych [10,11]. W ostatnim dziesięcioleciu zostało opracowanych wiele układów nanocząstkowych pozwalających na transport radionuklidów. Do organicznych nanocząstek wykorzystywanych w medycynie nuklearnej należą lipidy, materiały polimerowe w formie m.in. miceli, dendrymery. Spośród nich najlepiej zbadane i najbardziej perspektywiczne są liposomy [10, 12–14]. W niniejszej pracy zostaną omówione nanocząstki nieorganiczne, które znalazły zastosowanie w medycynie nuklearnej takie jak, nanocząstki złota, nanocząstki tlenku żelaza, nanocząstki srebra, nanozeolity oraz kropki kwantowe.

1. CHARAKTERYSTYKA NANOCZĄSTEK STOSOWANYCH W MEDYCYNIE

Rozwój nanotechnologii prowadzi do coraz szerszego wykorzystania nanomateriałów w medycynie. Są one używane jako znaczniki bądź platformy dla znaczników diagnostycznych w obrazowaniu molekularnym, czynniki antybakteryjne oraz nośniki do selektywnego dostarczania leków. Stosowane zarówno w diagnostyce jak i terapii nanocząstki mają średnice mniejsze niż 100 nm, czyli posiadają rozmiary podobne do jednostek biologicznych takich jak wirusy, cząsteczki DNA czy białka [15].

W przypadku leków przeciwnowotworowych, aby leczenie było efektywne lek musi pokonać wszystkie wewnętrzne bariery w organizmie i dotrzeć do komórek nowotworowych, przy minimalnej utracie aktywności w krwioobieg. Ponadto, po dotarciu do chorej tkanki lek powinien selektywnie zniszczyć komórki nowotworowe z jak najmniejszym oddziaływaniem na komórki zdrowe. Nanocząstki są strukturami, które potencjalnie mogą spełniać oba kryteria [11].

Nanocząstki, aby efektywnie pełnić rolę nośnika i dostarczać dawkę terapeutyczną do komórek nowotworowych, muszą mieć zdolność pozostawania w krwio-

obiegu odpowiednio długo zanim zostaną z niego wydalone. Przeważnie nanocząstki, których powierzchnia nie jest zmodyfikowana są wyłapywane w krwioobiegu przez makrofagi układu fagocytarnego, głównie komórki siateczkowo-śródbłonkowe gwiaździste wątroby i śledziony. Czas przebywania we krwi takich niezmodyfikowanych układów zależy od rozmiaru oraz kształtu cząstek. Można zatem wpływać na los nanocząstek we krwi poprzez modyfikację ich rozmiaru oraz powierzchni.

Jedną z istotnych zalet nanocząstek jest możliwość syntezy cząstek o określonych rozmiarach. Stosowane jako nośniki leków muszą mieć rozmiary na tyle duże, aby uniknąć gwałtownego przenikania przez naczynia krwionośne, ale również na tyle małe, aby makrofagi systemu fagocytarnego nie mogły ich wyłapać. Rozmiar sinusoid śledziony oraz komórek Kupffera wątroby waha się pomiędzy 150 a 200 nm, a wielkość szczelin pomiędzy komórkami wyściełającymi wewnętrzną stronę naczyń krwionośnych nowotworu wynosi od 100 do 600 nm. W związku z tym średnica nanocząstek powinna być nie większa niż 100 nm, tak aby mogły one przejść przez obie struktury naczyniowe i dotrzeć do komórek nowotworowych.

Jak już wcześniej wspomniano, poza rozmiarem równie ważnym czynnikiem, wpływającym na farmakokinetykę i biodystrybucję nanocząstek po wprowadzeniu do krwioobiegu jest charakterystyka ich powierzchni. Nanocząstki, aby uniknąć wychwycenia przez makrofagi muszą mieć silnie hydrofilową powierzchnię. Jedną z możliwości zwiększenia ich hydrofilowości jest pokrycie powierzchni nanocząstek hydrofilowym polimerem, takim jak np. polietylenoglikol [14].

2. MECHANIZMY KUMULOWANIA SIĘ NANOCZĄSTEK W ZMIENIONYCH CHOROBOWO TKANKACH – TRANSPORT BIERNY I CZYNNY

2.1. TRANSPORT BIERNY

Zastosowanie odpowiednich nanocząstek umożliwia immobilizowanym w nich substancjom aktywnym przenikanie bezpośrednio do organów i komórek zmienionych chorobowo. Osiągnięcie miejsc docelowych w organizmie przez nanocząstki odbywa się przy udziale mechanizmów transportu błonowego, zarówno biernego, jak i aktywnego. Nanocząstki o pożądanym rozmiarach i odpowiednio zmodyfikowanej powierzchni, zapobiegającej ich wychytowi przez układ fagocytarny organizmu, mogą pozostawać w krwioobiegu przez odpowiednio długi czas, zanim osiągną docelowe miejsce działania. Z kolei selektywnemu gromadzeniu się makromolekuł, w tym również nanocząstek, w komórkach nowotworu sprzyja specyfika budowy struktury naczyniowej guza oraz mechanizmy biernego transportu błonowego.

Szybki wzrost komórek nowotworowych możliwy jest między innymi dzięki sprawnym procesom angiogenezy, tj. tworzenia nowych, lub rearanzacji już istniejących naczyń krwionośnych w obrębie i poblizu masy guza w celu stałego zaopa-

trywania ją w tlen i składniki odżywcze [16,17]. Jednak brak równowagi w działaniu regulatorów angiogennych, takich jak czynniki wzrostu (VEGF) i metaloproteinazy macierzy, pociąga za sobą dużą dezorganizację naczyń nowotworowych przejawiającą się występowaniem w ich strukturze wielu porów, powiększone przerwy śród-węzłowe pomiędzy komórkami wewnętrznej ściany naczyń krwionośnych. Te cechy powodują, że makromolekuły, takie jak nanocząstki, o ciężarze cząsteczkowym powyżej 50 kDa, mogą przenikać przez pory naczyń nowotworowych i selektywnie gromadzić się w nowotworowej tkance śródmiąższowej. Ten typ transportu biernego jest określany jako „podwyższona przenikalność i retencja” (ang. *Enhanced permeation and retention, EPR*) [10, 14, 18].

Kolejnym czynnikiem wpływającym na bierny transport nanocząstek jest mikrośrodowisko nowotworowe. Szybki wzrost komórek nowotworowych związany jest z intensywnym metabolizmem. W guzach nowotworowych ilości tlenu i składników odżywczych dostarczanych przez naczynia krwionośne zwykle nie wystarczają do pełnego zaspokojenia zapotrzebowania energetycznego komórek. Do celów energetycznych komórki nowotworowe wykorzystują przede wszystkim glikolizę, co z kolei powoduje zakwaszenie ich mikrośrodowiska. Nanocząstki wrażliwe na zmiany pH można projektować w taki sposób, aby wykazywały największą stabilność w pH fizjologicznym (o wartości 7,4), natomiast rozpadały się i uwalniały aktywny lek dopiero w pH niższym od fizjologicznego, czyli w warunkach charakterystycznych dla mikrośrodowiska komórek nowotworowych [18].

2.2. TRANSPORT CZYNNY

System dostarczania leku oparty na transporcie biernym posiada wiele ograniczeń. Specyficzność transportu leku jest stosunkowo niska [18]. Ponadto, większe zmiany nowotworowe wykazują słabsze unaczynienie, zwłaszcza w obszarach martwiczych, co uniemożliwia lokalizację nanocząstek w tym miejscu [15].

W celu przezwyciężenia tych ograniczeń zostały opracowane nośniki nanocząstkowe nowej generacji oparte na tzw. transporcie aktywnym. Nanocząstki, będące nośnikiem radionuklidu zostały połączone z cząsteczką biologicznie aktywną, która ma możliwość rozpoznania antygenów lub receptorów znajdujących się na powierzchni komórek nowotworowych. Przykładem cząsteczki mającej powinowactwo do receptorów wielu ludzkich nowotworów jest kwas foliowy [13]. Także niektóre peptydy takie jak analogi somatostatyny [19], bombezyna [20], czy substancja P [21] wykazują duże powinowactwo do receptorów na komórkach nowotworowych. Innymi cząsteczkami biologicznie aktywnymi cieszącymi się dużym zainteresowaniem są przeciwciała monoklonalne lub ich mniejsze fragmenty [19], a ostatnio także nanociała (ang. *nanobodies*) – najmniejsze fragmenty naturalnie występujących, jednodomenowych przeciwciał, które wykazują pełną aktywność mimo nieobecności lekkiego łańcucha. Fragmenty te cechuje takie samo powinowactwo do antygenów, co dziesięć razy większe przeciwciała [22]. Zarówno prze-

ciwciała monoklonalne, ich fragmenty, jak i nanociała wykazują duże powinowactwo do antygenów szeregu nowotworów np. chłoniaków (ang. *Non-Hodgking's Lymphoma*) [15].

3. STRUKTURY NANOCZĄSTEK NIEORGANICZNYCH

Nanocząstki mające służyć jako nośniki radionuklidów w celowanej terapii są projektowane tak, aby izotopy promieniotwórcze mogły zostać zamknięte we wnętrzu nanocząstki, bądź przyłączyć się bardzo trwale do jej powierzchni. Do zaprojektowania odpowiednich systemów można użyć wielu związków nieorganicznych, do których należą: nanocząstki złota, kropki kwantowe, nanocząstki tlenku żelaza, nanozeolity czy nanocząstki srebra.

3.1. NANOCZĄSTKI ZŁOTA

Zarówno wartość energii promieniowania β^- jak i czas połowicznego zaniku izotopu ^{198}Au ($t_{1/2} = 2,7$ dnia; $E_{\text{max}}(\beta^-) = 0,96$ MeV) pozwalają na wykorzystanie ^{198}Au w terapii radionuklidowej do efektywnego niszczenia tkanek i komórek nowotworowych. Już w 50 latach ubiegłego wieku radionuklid ^{198}Au był stosowany w praktyce medycznej, głównie w brachyterapii raka prostaty. Radioaktywne złoto było umieszczane w cienkich platynowych kapsułach o średnicy 0,1 mm, co niestety wpływało na osłabienie dostarczanej dawki. Rozwój nanotechnologii dostarczył narzędzi do syntezy radioaktywnych nanocząstek złota i wprowadzenia ich do terapii. Pozwoliło to na ustabilizowanie radioaktywnego złota, bez konieczności dodatkowej kapsulacji, co pozwoliło na bezpośrednie dostarczanie dawki promieniowania β^- o wysokim natężeniu [23].

Nowatorska metoda syntezy nanocząstek złota została opracowana przez zespół z Uniwersytetu w Missouri (University of Missouri Research Reactor) [23–25]. Nanocząstki złota otrzymywane były na drodze reakcji radioaktywnego roztworu $\text{Na}^{198}\text{AuCl}_4$ z inicjatorem – trimeryczną alaniną ($\text{P}(\text{CH}_2\text{NHCH}(\text{CH}_3)\text{COOH})_3$). W ten sposób uzyskano nanocząstki o rozmiarze 15–20 nm. W wyniku reakcji, poza nanocząstkami złota, powstaje biologicznie niegroźna alanina oraz kwas fosforowy. Uzyskane nanocząstki były stabilizowane za pomocą gumy arabskiej, co zapobiegało aglomeracji. Następnie radioaktywne nanocząstki były wstrzykiwane bezpośrednio do ludzkiego guza prostaty wszczepionego myszom. Uzyskane wyniki dowiodły, że radioaktywne nanocząstki złota pozostały w obszarze guza nowotworowego, a aktywność która pojawiła się w zdrowych organach w 24 h od momentu aplikacji była zaniedbywalna [23].

Aby zwiększyć specyficzność receptorową nanocząstek złota, w kolejnym kroku opracowano biokoniugat, gdzie sfunkcjonalizowane nanocząstki połączono z biomoлекуłą. Peptydem mającym pełnić funkcje wektora była bombezyna, która charakte-

ryzuje się powinowactwem do receptorów GRP. Nadekspresja tego typu receptorów występuje właśnie w nowotworach prostaty. Podczas badań klinicznych radiofarmaceutyki oparte na bombezynie znakowane ^{99m}Tc zostały podane pacjentom z rakiem prostaty [26]. Badania te potwierdziły gromadzenie się aktywności w guzie prostaty, a tym samym gromadzenie się bombezyny w tym miejscu, co w perspektywie może mieć zastosowanie w diagnostyce tego typu nowotworów [26].

Jeżeli radionuklid ^{99m}Tc zastąpimy ^{198}Au możemy skonstruować radiofarmaceutyk mający zastosowanie równocześnie diagnostyczne i terapeutyczne. Badania z wykorzystaniem radioaktywnych nanocząstek złota skoniugowanych z bombezyną zostały przeprowadzone na myszach. Zwierzęta te stanowią jeden z najlepszych modeli do badania, ponieważ posiadają ogromną ilość receptorów na komórkach wydzielających gastrynę, zlokalizowanych w trzustce. Spodziewano się więc dużej kumulacji biokoniugatu w tym organie. Wyniki badania potwierdziły jego gromadzenie się we wszystkich organach posiadających receptory GRP. Obecność radioaktywności w pozostałych organach była nieznaczna. Wykazano zatem, że biokoniugat radioaktywnych nanocząstek złota i bombezyny wykazuje dużą specyficzność w stosunku do receptorów GRP guza prostaty [26].

Trzeba także zaznaczyć, że ogromną zaletą nanocząstek złota jest możliwość łatwej funkcjonalizacji ich powierzchni poprzez trwałe połączenia z grupami tiolowymi biomolekuł. Zbadano także możliwość wykorzystania nanocząteczek złota jako platformy dla ^{18}F – znacznika w technice tomografii pozytonowej oraz przeciwciała anti-metadherin wykazującego specyficzność do komórek raka piersi. Otrzymany radiobiokoniugat badano *in-vitro* na komórkach raka piersi MCF7 i stwierdzono dodatkowo zwiększenie apoptozy komórek z 2 do 20% [27].

W innej pracy, do pokrytej warstwą polietylenoglikolu nanocząstki złota przyłączono chimeryczny peptyd zawierający motyw amino-kwasowy RGD (rozpoznający integrynę $\alpha_3\beta_1$) oraz radionuklid ^{125}I . W badaniach *in-vivo* SPECT/CT zaobserwowano, że radiobiokoniugat gromadził się w tkance guza nowotworowego już po 10 min [28].

3.2. NANOCZĄSTKI TLENKU ŻELAZA

Obrazowanie NMR (ang. *Magnetic Resonance Imaging, MRI*) jest to nieinwazyjna technika diagnostyczna pozwalająca na uzyskanie obrazu wnętrza organu. Oparta jest ona na zjawisku jądrowego rezonansu magnetycznego. Zjawisko to zachodzi w próbce zawierającej jądra atomów, których spin jest różny od zera. Ponieważ jądro żelaza posiada niezerowy spin, dlatego jako środki kontrastowe nanocząstki tlenku żelaza są najczęściej wykorzystywane w technice MRI. Jedna cząstka zawiera tysiące atomów żelaza, co daje bardzo wysoką wartość relaksacji T_2 . Ogromną zaletą metody MRI jest uzyskiwanie znakomitych obrazów tkanek miękkich [11].

Jak wiadomo w badaniach metodą PET/CT otrzymujemy bardzo precyzyjny obraz miejsc akumulacji radiofarmaceutyki. Jest to obraz zarówno anatomiczny

(CT), jak i czynnościowy (PET). Jednakże w przypadku lokalizacji radionuklidu w tkankach np. podbrzusza obszar ten jest mało widoczny, ze względu na brak możliwości do zidentyfikowania struktur anatomicznych. Ten problem można wyeliminować poprzez połączenie metod MRI z PET. Wykonując jednocześnie badanie PET/MRI można nie tylko diagnozować nowotwory różnego typu, ale także przeprowadzać badania neurologiczne i wiele innych [10]. Stąd też istnieje potrzeba opracowywania innowacyjnych radiofarmaceutyków, które będą służyły jako kontrast w tej dualnej metodzie obrazowania. Idealnie nadają się do tego nanoplatformy tlenku żelaza połączone z radionuklidem emitującym promieniowanie β^+ .

Ze względu na magnetyczne przyciąganie, nanocząstki tlenku żelaza mają tendencję do tworzenia aglomeratów. Aby nanocząstki te można było zastosować w medycynie nuklearnej muszą być one stabilne, dobrze zdyspergowane w rozpuszczalniku wodnym. W celu ustabilizowania nanocząstek tlenku żelaza należy zmodyfikować ich powierzchnię stosując odpowiedni surfaktant powodujący powstanie podwójnej warstwy elektrycznej lub użyć stabilizatora, który wpłynie na zmianę punktu izoelektrycznego. Najczęściej stosowanymi modyfikatorami tlenków metali są silany z hydrofilowymi grupami funkcyjnymi [29]. Ponadto, cząsteczki modyfikujące pełnią rolę linkera, za pomocą którego można przyłączyć biomolekułę oraz związek kompleksowy radionuklidu.

Zostało opracowanych wiele metod syntezy oraz modyfikacji nanocząstek tlenku żelaza [29, 30, 33]. Lee i in. [30] ustabilizowali nanocząstki tlenku żelaza o rozmiarze 45 ± 10 nm kwasem poliasparaginowym. Na zewnętrznej warstwie znajdowały się grupy funkcyjne $-\text{COOH}$ oraz $-\text{NH}_2$, które następnie wykorzystano do przyłączenia wektora naprowadzającego i związku kompleksowego z radionuklidem. Zastosowano peptyd: arginina-glicyna-kwas asparaginowy, który rozpoznaje integrynę $\alpha_v\beta_3$ oraz związek kompleksowy DOTA- ^{64}Cu do wizualizacji procesu. Bifunkcyjny ligand DOTA został przyłączony do grupy $-\text{COOH}$, natomiast grupa $-\text{NH}_2$ została wykorzystana do wykonania aktywnego estru i przyłączenia peptydu. Następnie zostały przeprowadzone badania *in vitro* oraz *in vivo*, które potwierdziły akumulację radiobiokonjugatu w komórkach nowotworowych. Nastąpił jednak wychwyty leku przez układ fagocytarny. Przyczyną tego mogła być zbyt duża średnica hydrodynamiczna nanocząstek tlenku żelaza [30]. W innej pracy Patel i in. [31] pokryli nanocząstki supermagnetycznego tlenku żelaza cienką warstwą krzemionki do której przyłączono kompleks ^{64}Cu -DOTA poprzez silanizację. Ze względu na powolną farmakokinetkę Choi i in. [32] zastąpili ^{64}Cu dłużej żyjącym radionuklidem ^{124}I . Opisane bimodalne PET-MRI radiofarmaceutyki łączyły bardzo dużą rozdzielczość techniki MRI z wyjątkową czułością techniki PET (10^{-10} – 10^{-12} M).

Innym radioizotopem, który posiada szerokie zastosowanie w metodzie PET jest ^{18}F . Radionuklid ten jest bardzo łatwo dostępny, ponieważ służy on do znakowania fluorodeoksyglukozy – najpopularniejszego radiofarmaceutyku PET. Jednakże połączenie ^{18}F z cząsteczkami biologicznie aktywnymi jest dość trudnym procesem. Aby związać trwale ^{18}F wymagane są stosunkowo ostre warunki syntezy, reakcja

jest wieloetapowa co skutkuje otrzymaniem produktu z niską wydajnością [33, 34]. Alternatywnie została opracowana metoda wykorzystująca podejście tzw. „*click chemistry*”, czyli przeprowadzenie cykloaddycji azydkowo-alkinowej katalizowanej miedzią. Reakcje tego typu nie wymagają ostrych warunków, są proste i chemoselektywne, i mogą być wykorzystane do przyłączenia ^{18}F do powierzchni nanocząstek. W tym celu, nanocząstki tlenku żelaza zostały zmodyfikowane za pomocą dekstryn, które następnie zostały usieciowane epichlorohydryną oraz aminowane. Na tak zmodyfikowanej powierzchni występowały grupy $-\text{N}_3$, które posłużyły do wykonania połączenia z wcześniej przygotowanym ^{18}F -PEG₃. Niewykorzystane grupy funkcyjne mogą w późniejszym etapie posłużyć do przyłączenia peptydu lub przeciwciała monoklonalnego [35].

3.3. KROPKI KWANTOWE

Kropki kwantowe są to pojedyncze kryształy o rozmiarach rzędu kilku nanometrów, których kształt i wielkość mogą być bardzo precyzyjnie kontrolowane poprzez odpowiednio dobierane parametry syntezy (czas trwania, temperatura, cząsteczki liganda) [36]. Zbudowane są one z materiałów półprzewodnikowych: rdzenia (CdSe, CdTe, InP lub InAs) otoczonego warstwą (np. ZnS). Rdzeń kropek kwantowych stanowi materiał posiadający niższe wartości przerwy energetycznej, która oddziela energetyczne pasmo walencyjne od przewodnictwa niż materiał, z którego zbudowana jest warstwa zewnętrzna. Ma to odzwierciedlenie we właściwościach optycznych kropek kwantowych. Widmo emisyjne ma kształt wąskiego, symetrycznego piksu, co pozwala na użycie podczas wzbudzenia takiej długości fali, która jest oddalona od maksimum emisji. Wartość emitowanej długości fali (kolor kropek kwantowych) jest zależna od rozmiarów nanocząstek, zatem można ją łatwo kontrolować. Ponadto, w porównaniu z konwencjonalnymi związkami fluorescencyjnymi, kropki kwantowe posiadają wyższą fotostabilność, dłuższy czas życia fluorescencyjnego oraz większą czułość [37].

Użycie kropek kwantowych jako środków kontrastowych do badań *in vivo* ma wiele ograniczeń. Tkanki położone głębiej będą absorbowały część promieniowania fluorescencyjnego emitowanego przez kropki kwantowe co spowoduje, że uzyskane dane nie będą w pełni ilościowe. Jednym z wymogów badań diagnostycznych jest pomiar ilościowy, dlatego też doskonałym rozwiązaniem jest wyznakowanie kropek kwantowych radionuklidami emitującymi cząstki β^+ , wówczas mogą one znaleźć zastosowanie w łączonych metodach obrazowania, jako środki bimodalne podobnie jak nanocząstki tlenku żelaza [37, 38].

Istnieje wiele kropek kwantowych dostępnych handlowo, o różnych rozmiarach oraz grupach funkcyjnych (m. in. aminowych, karboksylowych), zlokalizowanych na powierzchni, za pomocą których można zmodyfikować powierzchnię tych układów lub przyłączyć radioizotop. Dotychczas kropki kwantowe zostały wyznakowane ^{18}F , ^{11}C , ^{64}Cu [28, 29]. Do wyznakowania kropek kwantowych o aminowych

i karboksylowych grupach funkcyjnych użyto [^{18}F]fluoroetylosyłu oraz [^{11}C]jodku metylu. W przypadku znakowania ^{18}F uzyskano 5% wydajność, natomiast dla radioizotopu ^{11}C ten wynik był znacznie lepszy i wynosił 45% [37].

Radionuklidem ^{64}Cu zostały wyznakowane dostępne handlowo nanocząstki CdSe/ZnS. Kropki kwantowe zostały wcześniej zmodyfikowane przy użyciu polietylenoglikolu (MW 2000), tak aby przedłużyć ich czas półtrwania w krwioobieg. ^{64}Cu została związana z bifunkcyjnym ligandem DOTA i następnie uzyskany związek kompleksowy połączono z polietylenoglikolem na powierzchni nanocząstek (^{64}Cu -DOTA-PEG-QD). Tak przygotowany radiofarmaceutyk podano myszom. Przeprowadzono badania biodystrybucji w zależności od rozmiaru kropek kwantowych (o średnicy hydrodynamicznej 12 nm oraz 21 nm). Zbadano również wpływ obecności polietylenoglikolu na powierzchni nanocząstek na szybkość usuwania radiofarmaceutyku z krwioobiegu. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały prawie natychmiastowe pojawienie się aktywności w wątrobie i śledzionie. Wielkość kropek kwantowych nie miała wpływu na biodystrybucję, jedynie obecność polietylenoglikolu trochę spowolniła gromadzenie się kropek kwantowych w organach układu fagocytarnego [38]. Uzyskane wyniki sugerowały, iż zastosowanie kropek kwantowych w badaniach *in vivo* metodą fluorescencji będzie niemożliwe. W kolejnym kroku użyto kropek kwantowych, w których do układu ^{64}Cu -DOTA-PEG-QD został przyłączony peptyd, składający się z trzech aminokwasów: argininy, glicyny i kwasu asparaginowego, wykazujący powinowactwo do receptorów na komórkach nowotworów centralnego układu nerwowego (glejakach). W tym przypadku również zaobserwowano kumulację radiofarmaceutyku w wątrobie oraz śledzionie, przy czym dodatkowo aktywność pojawiła się w nerkach, mięśniach, a także komórkach nowotworowych. Po raz pierwszy zostały uzyskane wyniki ilościowe z wykorzystaniem kropek kwantowych, co daje możliwość wykorzystania tych układów jako środków bimodalnych. Jedynym niekorzystnym efektem jest znaczna kumulacja radiofarmaceutyku w wątrobie oraz śledzionie. Podejrzewa się, że efekt ten można zmniejszyć w znacznym stopniu poprzez użycie kropek kwantowych o mniejszych rozmiarach [39].

Kennel i in. [40] analizując wyniki badań opisanych powyżej, podjęli próbę zbadania drogi, jaką przebywa radiofarmaceutyk oparty na kropkach kwantowych wewnątrz organizmu. Według autorów, pojawienie się aktywności w innych organach niż docelowe, mogło świadczyć o rozpadzie związku kompleksowego ^{64}Cu -DOTA, bądź wydzieleniu się innych produktów rozpadu radiofarmaceutyku po wprowadzeniu do organizmu myszy. Aby uzyskać bardziej jednoznaczne wyniki, do znakowania kropek kwantowych użyty został radionuklid $^{125\text{m}}\text{Te}$, który stanowił integralną część układu CdTe. Wektorem w tym przypadku było przeciwciało monoklonalne, które miało za zadanie nakierowanie biokonjugatu na receptory znajdujące się w płucach myszy. Równocześnie przeprowadzono badania z użyciem $\text{Cd}^{125\text{m}}\text{Te}$, które nie były połączone z przeciwciałem monoklonalne. Okazało się, że niezależnie od tego czy kropki kwantowe połączone były z wektorem czy nie, następowała bardzo szybka lokalizacja radiofarmaceutyku w organach układu fagocytarnego [40].

Połączenie metod obrazowania PET z obrazowaniem optycznym może umożliwić zastosowanie metody bliskiej podczerwieni z sondą światłowodową (NIRF) do uzyskiwania obrazów tkanek głębiej położonych oraz uzyskiwanie danych ilościowych w badaniach tych organów.

3.4. NANOZEOLITY

Zeolity są to nieorganiczne glinokrzemiany o strukturze krystalicznej. Podstawową jednostką budującą strukturę tych związków są tetraedry AlO_4 oraz SiO_4 , które łączą się ze sobą poprzez wspólne atomy tlenu w różne struktury trójwymiarowe. Atom glinu w strukturze zeolitów jest połączony z 4 atomami tlenu, w związku z tym jest na nim gromadzony formalny ładunek ujemny, tak więc siatka zeolitu jest naładowana ujemnie. Aby skompensować ten ujemny ładunek, w sieci zeolitu są obecne przeciwjony o ładunku +1 lub +2, najczęściej są to kationy I i II grupy układu okresowego. Kationy te są labilne i mogą swobodnie poruszać się w sieci zeolitu, co determinuje właściwości jonowymiennie tych związków. Zeolity zawierają w swojej strukturze również słabo związane cząsteczki wody. Sieć przestrzenną zeolitów tworzą kanały oraz połączone nimi komory, w których zlokalizowane są cząsteczki wody oraz kationy.

Syntetyczne zeolity otrzymywane są na drodze syntezy hydrotermalnej. Poprzez dobranie odpowiednich warunków syntezy oraz stosunków molowych reagentów otrzymuje się zeolity o odpowiedniej strukturze, natomiast czas trwania takiej syntezy rzutuje na rozmiar tych związków. W ostatnim dziesięcioleciu zostało opracowanych wiele syntez, podczas których otrzymywane są zeolity o rozmiarach nanometrowych, o różnych strukturach i właściwościach [41–45].

Istnieją jedynie dwa doniesienia literaturowe dotyczące zastosowania nanozeolitów w medycynie nuklearnej [46, 47]. Tsotsalas, i in. [46] Zbadali możliwość zastosowania biokompatybilnego nanozeolitu typu L o rozmiarach 30 nm do immobilizacji diagnostycznego radionuklidu ^{111}In . Powierzchnia nanozeolitu została zmodyfikowana przy użyciu pochodnej polietylenoglikolu, z grupami silanowymi na jednym końcu. Grupy te posłużyły do przyłączenia cząsteczki modyfikującej do grup Si-OH występujących na powierzchni nanozeolitu. Następnie nanozeolit zmodyfikowany i niezmodyfikowany został wyznakowany jonami $^{111}In^{3+}$, na drodze wymiany jonowej z jonami K^+ , po czym próbki te zostały zawieszono w roztworze soli fizjologicznej. Okazało się, że znaczny procent aktywności pojawił się w roztworze, co świadczyło o wycieku jonów $^{111}In^{3+}$ ze struktury nanozeolitu do roztworu soli fizjologicznej. Aby temu zapobiec zostały opracowane tzw. cząsteczki zamykające (ang. *stopcock molecules*), które zostały zaprojektowane tak, aby zamknąć kanały odprowadzające nanozeolitu. Cząsteczki „korka” stanowiły związki bifunkcyjne, które z jednej strony posiadały grupę trietoksylanową, pozwalającą na przyłączenie jej do powierzchni nanozeolitu, a z drugiej strony dodatnio naładowany imidazol, który wnikał w kanały nanozeolitu. Następnie, po wypełnieniu nanozeolitu

jonami $^{111}\text{In}^{3+}$ okna jego kanałów zostały „zakorkowane”. Badania trwałości w soli fizjologicznej dowiodły, że kanały te zostały szczelnie zablokowane, gdyż tym razem aktywność nie pojawiła się w roztworze. Zostały również przeprowadzone badania biodystrybucji z użyciem nanozeolitu L wypełnionego ^{111}In . Jednocześnie został podany myszom czysty roztwór $[\text{}^{111}\text{In}]\text{InCl}_3$. Nanozeolit L kumulował się w wątrobie, śledzionie oraz płucach, podczas gdy wolny ^{111}In znaleziono w nerkach oraz we krwi [46].

W drugim doniesieniu [47] zbadano możliwość wykorzystania nanozeolitów do związania radionuklidów ^{223}Ra i ^{224}Ra z biomolekułą. Oba emitery promieniowania α posiadają bardzo atrakcyjne własności jądrowe, które mogłyby być wykorzystane w celowanej radioterapii, jednak związanie ich z biomolekułą poprzez połączenie chelatowe jest niemożliwe. Wykorzystując wysoką selektywność nanozeolitów typu A w stosunku do dużych kationów grupy I i II (Cs^+ , Ba^{2+} i Ra^{2+}) otrzymano trwałą immobilizację ^{224}Ra . Przyłączenie wektora naprowadzającego powinno pozwolić na otrzymanie radiobiokoniugatów przydatnych dla terapii emiterami α , która jest efektywna przy leczeniu przerzutów i drobnych zmian nowotworowych.

Zastosowanie nanozeolitów jako nośników radionuklidów terapeutycznych lub diagnostycznych wymaga jeszcze dopracowania. Zamykanie kanałów tych struktur oraz modyfikacja ich powierzchni jest czasochłonna, dlatego wykonywanie tych operacji po zaadsorbowaniu radionuklidów nie jest korzystne, zwłaszcza dla izotopów krótkożytych.

3.5. NANOCZĄSTKI SREBRA

Radionuklid ^{211}At , emiter promieniowania α , jest obiecującym radionuklidem terapeutycznym, o czasie połowicznego zaniku 7,21 h. Dzięki korzystnym właściwościom jądrowym może on znaleźć zastosowanie w celowanej terapii radionuklidowej deponując dużą dawkę w małej objętości tkanek nowotworowych, nie oddziałując na zdrowe komórki. Do tej pory opracowanych zostało wiele nośników ^{211}At opartych na przeciwciałach monoklonalnych, ich fragmentach oraz hormonach steroidowych [48, 49], jednakże w większości układy te okazały się niestabilne. Związanie zaś astatu w nanocząstkach liposomów czy nanorurkach węglowych było procesem długim i skomplikowanym [50].

Wykorzystując bardzo duże powinowactwo ciężkich chlorowców do metalicznego srebra, Lebeda i in. [51] zaproponowali związanie ^{211}At na nanocząstkach srebra. W badaniach zostały wykorzystane komercyjne nanocząstki srebra, które stanowiły rdzeń pokryty białkiem, do którego następnie przyłączony został tlenek polietylenu. Na tak przygotowanym nanonośniku osadzono ^{211}At . Podczas pierwszych eksperymentów osiągnięto wysoki stopień znakowania, który wynosił ok. 95%. Wyznakowane nanocząstki były stabilne, nawet w obecności nadmiaru jonów chlorkowych. Według autorów, nanocząstki srebra z immobilizowanym ^{211}At mogą znaleźć zastosowanie w terapii wykorzystując bierny transport nanocząstek

(EPR) lub po modyfikacji tlenku polietylenu mogą zostać przyłączone do wektora naprowadzającego je do chorych tkanek.

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY NA PRZYSZŁOŚĆ

Jak dotychczas ukazało się niewiele prac dotyczących znakowanych radionuklidami nanocząstek nieorganicznych mających zastosowanie terapeutyczne lub diagnostyczne. W przypadku obrazowania molekularnego, wyznakowane emiterami γ lub β^+ nanocząstki pozwalają na otrzymanie obrazów które charakteryzują się dużą czułością, przy czym wykonane pomiary odbywają się w sposób ilościowy. Dodatkową zaletą jest możliwość wykorzystania nanoplatform jako nośników różnych kontrastów, co pozwala na wykonanie obrazu więcej niż jedną techniką [11].

W przypadku terapii radionuklidowej zastosowanie nanocząstek pozwoliło na związanie radionuklidów, których w „tradycyjny” sposób nie udało się przyłączyć do biomolekuły. Ponadto, w jednej nanocząstce można było umieścić wiele atomów radionuklidów, podczas gdy do jednego liganda można w zasadzie przyłączyć jedynie jeden atom radionuklidu. Wpływa to istotnie na zwiększenie dawki deponowanej w chorej tkance [52].

Przyszłość nanocząstek w medycynie nuklearnej związana jest z ich multimodalnością polegającą na połączeniu diagnostyki i terapii w jednym radiofarmaceutyku. To nowe podejście nazywane „teranostic” pozwala na zastosowanie spersonalizowanej terapii. Najpierw stosując biokoniuugat znakowany radionuklidem diagnostycznym możemy zbadać, czy obserwuje się gromadzenie radionuklidu w chorej tkance, ustalić optymalną dawkę terapeutyczną i następnie wykorzystując ten sam biokoniuugat znakowany radionuklidem terapeutycznym przeprowadzić proces leczenia [11].

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] L. Królicki, *Wiad. Chem.*, 1999, **53**, 647.
- [2] C.J. Anderson, M.J. Welch, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2219.
- [3] K. Samochocka, *Wiad. Chem.*, 1999, **53**, 661.
- [4] P.A. Schubiger, R. Alberto, A. Smith, *Bioconjugate Chem.*, 1996, **7**, 165.
- [5] V. Tolmachev, J. Carlsson, H. Lundqvist, *Acta Oncol.*, 2004, **43**, 264.
- [6] W.A. Wolkert, T.J. Hoffman, *Chem. Rev.*, 1999, **99**, 2269.
- [7] S. Liu, D.S. Edwards, *Bioconjugate Chem.*, 2001, **12**, 7.
- [8] *Handbook of Nuclear Chemistry*, A. Vértes, S. Nagy, Z. Klencsár (eds.), Kluwer Academic Publisher, 2003, **4**, 279.
- [9] A. Majkowska, A. Bilewicz, *Wiad. Chem.*, 2008, **62**, 7.
- [10] G. Ting, C.-H. Chang, H.-E. Wang, T.-W. Lee, J. Biomed. Biotechnol., 2010, **2010**, 17.
- [11] H. Hong, Y. Zhang, J. Sun, W. Cai, *Nano Today*, 2009, **4**, 399.
- [12] M. Hamoudeh, M.A. Kamleh, R. Diab, H. Fessi, *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 2008, **60**, 1329.

- [13] L. Zhang, F.X. Gu, J.M. Chan, A.Z. Wang, R.S. Langer, O.C. Farokhzad, *Int. J. Clin. Pharm. Th.*, 2008, **83**, 761.
- [14] G. Henriksen, B.W. Schoultz, T.E. Michaelsen, Ø.S. Bruland, R.H. Larsen, *Nucl. Med. Biol.*, 2004, **31**, 441.
- [15] K. Kairemo, P. Erba, K. Bergström, E.K.J. Pauwels, *Curr. Radiopharm.*, 2008, **1**, 30.
- [16] J. Skóra, J. Biegus, A. Pupka, P. Barć, J. Sikora, P. Szyber, *Postępy Hig Med. Dosw.*, 2006, **60**, 410.
- [17] I. Sacewicz, M. Wiktorska, T. Wysocki, J. Niewiarowska, *Postępy Hig Med. Dosw.*, 2009, **63**, 159.
- [18] K. Cho, X. Wang, S. Nie, Z.G. Chen, D.M. Shin, *Clin. Cancer Res.*, 2008, **14**, 1310.
- [19] S. Froidevaux, A.N. Eberle, *Biopolymers (Peptide Science)*, 2002, **66**, 161.
- [20] C.J. Smith, W.A. Volkert, T.J. Hoffman, *Nucl. Med. Biol.*, 2005, **32**, 733.
- [21] D. Cordier, F. Forrer, F. Bruchertseifer, A. Morgenstern, C. Apostolidis, S. Good, J. Müller-Brand, H. Mäcke, J.C. Reubi, A. Merlo, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2010, **37**, 1335.
- [22] L. Olive, T. Gainkam, L. Huang, V. Caveliers, M. Keyaerts, S. Hernot, I. Vaneycken, Ch. Vanhove, H. Revets, P. De Baetselier, T. Lahoutte, *J. Nucl. Med.*, 2008, **49**, 788.
- [23] R. Kannan, A. Zambre, N. Chanda, R. Kulkarni, K. Katti, A. Upendran, C. Cutler, E. Boote, K.V. Katti, *Nanomed. Nanobiotechnol.*, 2012, **4**, 42.
- [24] K.V. Katti, R. Kannan, K. Katti, V. Kattumori, R. Pandrapraganda, V. Rahing, C. Cutler, E.J. Boote, S.W. Casteel, C.J. Smith, J.D. Robertson, S.S. Jurrison, *Czech. J. Phys. Suppl.*, 2006, **D56**, D23-D33.
- [25] N. Chanda, P. Kan, L.D. Watkinson, R. Shukla, A. Zambre, T.L. Carmack, H. Engelbrecht, J.R. Lever, K. Katti, G.M. Fent, S.W. Casteel, C.J. Smith, W.H. Miller, S. Jurisson, E. Boote, J.D. Robertson, C. Cutler, M. Dobrovolskaia, R. Kannan, K.V. Katti, *Nanomedicine-UK*, 2010, **6**, 201.
- [26] N.K. Devaraj, E.J. Keliher, G.M. Thurber, M. Nahrendorf, R. Weissleder, *Bioconjugate Chem.*, 2009, **20**, 397.
- [27] G. Unak, F. Ozkaya, I.E. Medine, O. Kozgus, S. Sakarya, R. Bekis, P. Unak, S. Timur, *Surf. B: Bioint.*, 2012, **90**, 217.
- [28] Y.H. Kim, J. Jeon, S.H. Hong, W.K. Rhim, Y.S. Lee, H. Youn, J.K. Hung, M.C. Lee, D.S. Lee, K.W. Kang, J.M. Nam, *Small*, 2011, **7**, 2052.
- [29] S. Liang, Y. Wang, Ch. Zhang, X. Liu, Z. Liu, R. Xu, Yin, J. *Radioanal. Nucl. Chem.*, 2006, **269**, 3.
- [30] H.-Y. Lee, Z. Li, K. Chen, A.R. Hsu, Ch. Xu, J. Xie, S. Sun, X. Chen, *J. Nucl. Med.*, 2008, **49**, 1371.
- [31] D. Patel, A. Kell, B. Simard, J.X. Deng, B. Xiang, H.Y. Lin, M. Gruwel, G.H. Tian, *Biomaterials*, 2010, **31**, 2866.
- [32] J.S. Choi, J.C. Park, H. Nah, S. Woo, J. Oh, K.M. Kim, G.J. Cheon, Y. Chang, J. Yoo, J. Cheon, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, **47**, 6259.
- [33] T. Poethko, M. Schottelius, G. Thumshirn, U. Hersel, M. Herz, G. Henriksen, H. Kessler, M. Schwaiger, H.J. Wester, *J. Nucl. Med.*, 2004, **45**, 892.
- [34] G. Vaidyanathan, R. Zalutsky, *Nat. Prot.*, 2006, **1**, 1655.
- [35] N.K. Devaraj, E.J. Keliher, G.M. Thurber, M. Nahrendorf, R. Weissleder, *Bioconjugate Chem.* 2009, **20**, 397.
- [36] X. Michalet, F.F. Pinaud, L.A. Bentolila, J.M. Tsay, S. Doose, J.J. Li, G. Sundaresan, A.M. Wu, S.S. Gambhir, S. Weiss, *Science*, 2005, **307**, 538.
- [37] M. Patt, A. Schildan, B. Habermann, O. Mishchenko, J.T. Patt, O. Sabri, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2010, **283**, 487.
- [38] M.L. Schipper, Z. Cheng, S.-W. Lee, L.A. Bentolila, G. Iyer, J. Rao, X. Chen, A.M. Wu, S. Weiss, S.S. Gambhir, *J. Nucl. Med.*, 2007, **48**, 1511.
- [39] W. Cai, K. Chen, Z.-B. Li, S.S. Gambhir, X. Chen, *J. Nucl. Med.*, 2007, **48**, 1862.
- [40] S.J. Kennel, J.D. Woodward, A.J. Rondinone, J. Wall, Y. Huang, S. Mirzadeh, *Nucl. Med. Biol.*, 2008, **35**, 501.

-
- [41] V.P. Valtchev, L. Tosheva, K.N. Bozhilov, *Langmuir*, 2005, **21**, 10724.
 - [42] H. Wang, B.A. Holmberg, Y. Yan, *J. Mater. Chem.*, 2002, **12**, 3640.
 - [43] B.-Z. Zhan, M.A. White, K.N. Robertson, T.S. Cameron, M. Gharghour, *Chem. Commun.*, 2001, 1176.
 - [44] Y. Hu, Ch. Liu, Y. Zhang, N. Ren, Y. Tang, *Micropor. Mesopor. Mat.*, 2009, **119**, 306.
 - [45] R.V. Greiken, J.L. Sotelo, J.M. Menendez, J.A. Melero, *Micropor. Mesopor. Mat.*, 2000, **39**, 135.
 - [46] M.M. Tsotsalas, K. Kopka, G. Luppi, S. Wagner, M.P. Law, M. Schäfers, L.D. Cola, *ACSNano*, 2010, **4**, 342.
 - [47] A. Kasperek, A. Bilewicz, *J. Label. Cmp. Radiopharm.*, 2011, **54**, S537.
 - [48] G. Vaidyanathan, M.R. Zalutsky, *Phys. Med. Biol.* 1996, **41**, 1915.
 - [49] R. Weinreich, *Advances in radiotherapy*, 1997, **61**, 359.
 - [50] K.B. Hartman, D.K. Hamlin, D.S. Wilbur, L.J. Wilson, *Small*, 2007, **3**, 1496.
 - [51] J. Kuckaa, M. Hruby, C. Konak, J. Kozempel., O. Lebeda, *Appl. Radiat. Isotopes*, 2006, **64**, 201.
 - [52] S.M. Moghimi, A.C. Hunter, J.C. Murray, *FASEB J.*, 2005, **19**, 311.

Praa wpłynęła do Redakcji 2 kwietnia 2012