

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**PRIMJENA NANOMATERIJALA U REGENERATIVNOJ
MEDICINI**

**APPLICATION OF NANOMATERIALS IN
REGENERATIVE MEDICINE**

SEMINARSKI RAD

Tea Sonicki

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Petra Peharec Štefanić

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. SVOJSTVA NANOMATERIJALA.....	2
2.1 Fizikalna svojstva nanomaterijala.....	2
2.2 Kemijska svojstva nanomaterijala.....	3
2.3 Optička svojstva nanomaterijala.....	4
2.4 Magnetska svojstva nanomaterijala.....	4
2.5 Električna svojstva nanomaterijala.....	4
3. REGENERACIJA SRCA I KARDIOVASKULARNOG SUSTAVA.....	5
3.1 Srčani udar.....	5
3.2 Primjena nanomaterijala za regeneraciju srca.....	5
4. REGENERACIJA OZLJEDA KOŽE.....	9
4.1 Dijabetičko stopalo.....	9
4.2 Primjena nanomaterijala za regeneraciju kože – dijabetičko stopalo.....	9
4.3 Opekline.....	10
4.4 Primjena nanomaterijala za regeneraciju kože – opekline.....	10
5. ZAKLJUČAK.....	13
6. LITERATURA.....	14
7. SAŽETAK.....	24
8. SUMMARY.....	24

1. UVOD

Postoji nekoliko definicija nanomaterijala, no ono što je zajedničko svakoj je da se promatraju na skali od 1 do 100 nm (SCoEaNIHR, E. S., 2010; Lövestam i sur., 2010; Scientific Committee on Consumer Products, 2007). Prema seriji standarda ISO/TS 80004 Međunarodne Organizacije za Standardizaciju iz 2015. godine, nanomaterijali su definirani kao „materijali s bilo kojom vanjskom dimenzijom mjerenom nanoskalom ili s unutarnjom strukturom ili vanjskom površinom mjerenom nanoskalom“, pri čemu je nanoskala definirana kao „raspon duljine približno od 1 do 100 nm“. Prema toj definiciji početak postojanja nanomaterijala je netom nakon velikog praska kada su nastale nanočestice iz meteorita. Međutim, svjesno stvaranje nanomaterijala je zabilježeno tek 1857. godine kada je Michael Faraday objavio kako se provodi sinteza koloidne otopine nanočestica zlata koju je nazvao aktivirano zlato (Sudha i sur., 2018). Sama primjena nanomaterijala u medicini započela je tek 1990-ih. Razlog tomu je što je tek 1981. godine razvijen pretražni tunelirajući mikroskop, a 1986. godine mikroskop atomske sile. To su pretražni mikroskopi koji omogućuju grafički prikaz individualnog atoma. Zahvaljujući njima, osim uvida u nanostrukturu, bilo je omogućeno i pozicioniranje i manipulacija nanostrukture na kontroliran način (Krukemeyer, 2015).

Regeneracija tkiva je obnova ili ponovna uspostava rasta stanica i njihovog izvanstaničnog matriksa kako bi se nadomjestilo izgubljeno tkivo. To je niz događaja koji zahtijevaju podjelu, proliferaciju i migraciju stanica te stvaranje elemenata izvanstaničnog matriksa. Brzina odvijanja tog slijeda događaja ovisi o tipu tkiva i o organizmu u kojem se odvija te o starosti istog (Tekinay, 2019).

Regenerativna medicina je brzorastuća interdisciplinarna znanstvena disciplina koja se bavi proučavanjem regeneracije tkiva. Koristi se kombinacija nekolicine tehnoloških pristupa koji nadilaze tradicionalne transplantacije. Pri tome se često koriste topive molekule, transplantacija matičnih stanica, umjetna tkiva i reprogramiranje stanica i tkiva (Greenwood i sur., 2006, Mason i Dunnill, 2008). Donedavno u području regenerativne medicine, istraživanje regeneracije tkiva bilo je usmjereno ka decelularizaciji i acelularizaciji tkiva te njihovoj recelularizaciji. Nadalje, nedavni napredak u području nanotehnologije omogućio je

drugačiji pristup rješavanju problema regeneracije tkiva. Korištenjem nanomaterijala omogućeno je izravno djelovanje na stanice pomoću specifičnih interakcija (Tekinay, 2019).

2. SVOJSTVA NANOMATERIJALA

U našem tijelu stanice stupaju u interakciju s izvanstaničnim matriksom prilikom čega topografija, koja se mjeri nanoskalom, uvjetuje rast stanice, mogućnost adhezije, mobilnost te diferencijaciju. Kako bi došlo do poboljšanja regeneracije tkiva razvijeni su nanomaterijali koji oponašaju strukturu i sastav tkiva (Engel i sur., 2008). Razvijeni nanomaterijali posjeduju drugačija fizikalna, kemijska, optička, magnetska i električna svojstva u odnosu na druge korištene materijale (Solanki i sur., 2008).

2.1 Fizikalna svojstva nanomaterijala

Fizikalna svojstva samih stanica, kao što su oblik, veličina i topografija usko su povezane s funkcijom iste (Mitrugotri i Lahann, 2009). Manja veličina nanomaterijala u odnosu na mikromaterijale koji su bili ranije korišteni, rezultirala je poboljšanim svojstvima. Produljeno je vrijeme cirkulacije nanomaterijala u krvi te mogućnost prelaska tkivnih barijera što je od interesa prilikom dopreme lijekova do oštećenih tkiva (Kohane, 2007). Krvno-moždana barijera je ograničavajući čimbenik za regeneraciju tkiva mozga zato što je njena propusnost manja od 1% za male peptide (Orive i sur., 2009). Pokazano je da se nanočestice zlata veličine od 15 do 50 nm akumuliraju u mozgu što govori u prilog njihovoj mogućnosti prelaska krvno-moždane barijere te su iz tog razloga potencijalni nosači za razne lijekove (Sonavane i sur., 2008). Specifičnost oblika i anizotropnost bioloških interakcija ključni su parametri za funkciju stanice, tkiva i organa (Meyer i Green, 2016). Modifikacija nanomaterijala u specifične oblike kao što su cilindri i cijevi rezultirala je novim primjenama u regenerativnoj medicini (Petros i DeSimone, 2010). Uporaba anizotropnih nanomaterijala za izradu platformi koje oponašaju strukturu izvanstaničnog matriksa omogućava *ex vivo* izradu tkiva (Meyer i Green, 2016). Nanomaterijali zbog svoje topografije, koja se mjeri nanoskalom, mogu kontrolirati sudbinu stanica pomoću sličnih mehanizama koji se koriste u staničnom prepoznavanju izvanstaničnog matriksa. Do prepoznavanja nanomaterijala kao izvanstaničnog matriksa dolazi zbog određene duljine, radijusa i površinske nepravilnosti

nanomaterija. Interakcije između stanica i nanomaterijala se javljaju na razini pojedinačnih receptora na površini stanica te takve interakcije mogu upravljati orijentacijom, adhezijom te diferencijacijom stanica (Mitragotri i Lahann, 2009, Gulak i sur., 2009, Lutolf i sur., 2009).

2.2 Kemijska svojstva nanomaterijala

Površinski sloj velikih materijala predstavlja mali udio sveukupnog materijala koji se koristi, stoga taj sloj ne doprinosi mnogo svojstvima materijala. Međutim, s obzirom na veliki omjer površine i volumena nanomaterijala, površinski sloj predstavlja veliki udio samog materijala te znatno doprinosi kemijskim svojstvima kao što su topljivost, luminiscencija i katalitička aktivnost (Boles i sur., 2016). Nanomaterijali mogu apsorbirati endogene proteine kada se nalaze u biološkom okolišu zbog reaktivnosti njihove površine (Nel i sur., 2009). Primjerice, u cirkulaciji, nanočestice mogu apsorbirati proteine seruma kao što su imunoglobulini i lipoproteini, međutim, pozitivno nabijene nanočestice imaju smanjenu stopu apsorpcije proteina čime je produženo vrijeme opstanka takvih nanočestica u cirkulaciji te se manje akumuliraju u jetri i slezeni (Owens i Peppas, 2006, Alexis i sur., 2008). Također, interakcija pozitivno nabijenih nanočestica i stanične površine rezultira većom lokalnom propusnošću fosfolipidnog dvosloja, što upućuje na potencijalni mehanizam prijenosa nanočestica preko stanične membrane (Wang i sur., 2008). Nanomaterijali se mogu formirati samosastavljanjem u uređene strukture pomoću slabih nekovalentnih interakcija kao što su ionske, vodikove, van der Waalove veze te hidrofobne interakcije. Na takav se način formiraju strukture koje tvore amfipatski peptidi kod kojih dolazi do stvaranja komplementarnih interakcija između hidrofobnih i hidrofilnih površina. Na ovaj način stvara se platforma slične strukture izvanstaničnome matriksu koja sadrži male pore te veliki udio vode, radi čega dolazi do spore difuzije nutrijenata i faktora rasta te stvaranja trodimenzionalnog okoliša za nasadivanje stanica od interesa (Zhang i sur., 1993, Zhang, 2003).

2.3 Optička svojstva nanomaterijala

Kvantne točke su koloidni poluvodljivi nanokristali građeni najčešće od kadmijevog sulfida i kadmijevog selenida. Kvantne točke su velike svega nekoliko nanometara te pri toj veličini kvantni efekti postaju više uočljivi što daje prednost nad klasičnim fluoroforima. Poželjna svojstva su produljeno vrijeme fluorescencije i veći intenzitet (Solanki i sur., 2008, Michalet i sur., 2005). Takve prednosti omogućuju dugoročno označavanje matičnih stanica nakon njihovog injektiranja ili transplantiranja na željeno mjesto (Shah i sur., 2007). Međutim, pokazano je da velike koncentracije kvantnih točaka dovode do malformacija u embrionalnom razvoju (Duberet i sur., 2002).

2.4 Magnetska svojstva nanomaterijala

Magnetske nanočestice su nanomaterijali koji sadrže metale kao što su kobalt, nikal i željezo s paramagnetskim, feromagnetskim ili supramagnetskim svojstvima. Nanočestice željezova oksida supramagnetskih svojstava posjeduju potencijal za korištenje u *in vivo* uvjetima jer su ovakve čestice sastavljene od biokompatibilnog željezovog metala koji ne stvara nakupine radi nedostatka međusobnog privlačenja (Markides i sur., 2012). Magnetske nanočestice mogu se prihvatiti na površinu stanica i aktivirati membranske kanale osjetljive na mehanički podražaj pomoću jakog magnetskog polja čime se mogu kontrolirati stanični procesi (Dobson, 2008).

2.5 Električna svojstva nanomaterijala

Korištenjem nanomaterijala kao što je na primjer grafen, moguće je povećati vodljivost platforme kako bi se poboljšala regeneracija tkiva koje je električki aktivno (Dvir i sur., 2011b). Mišić srca sadrži Purkinjeova vlakna čija je uloga provođenje električnih impulsa koji su od velike važnosti za kontrakciju miokarda. Radi toga je inkorporacija nanomaterijala koji ima mogućnost provođenja impulsa od velike važnosti kod regeneracije miokardija (You i sur., 2011). Također, kako bi se povećala vodljivost platforme korištene za regeneraciju srca, koriste se vodljivi materijali, primjerice zlatne nanožice. Time se poboljšava električna komunikacija između kardiomiocita u različitim dijelovima srca (Dvir i sur., 2011).

3. REGENERACIJA SRCA I KARDIOVASKULARNOG SUSTAVA

3.1 Srčani udar

Srčani udar, odnosno infarkt, nastaje zbog formiranja plakova na unutarnjem zidu arterije što rezultira smanjenjem priljeva krvi u srce te oštećenjem mišića srca zbog smanjene dopreme kisika. Liječenje infarkta uključuje uzimanje aspirina te injekcija trombolitika kako bi se razorio ugrušak koji blokira arteriju. Također, koriste se i nitroglicerini i lijekovi protiv hipertenzije kako bi se smanjio krvni tlak te kako bi se poboljšala doprema kisika do srca (Lu i sur., 2015). Osim navedenog, koriste se i razne operativne revaskularizirajuće tehnike, međutim, unatoč istim, zatajenje srca je i dalje česta komplikacija srčanog udara zbog ograničene regenerativne sposobnosti srčanog mišića (Sutton i Sharpe, 2000). Nanomaterijali su se pokazali kao ključne komponente prilikom regeneracije i popravka srčanog mišića (Nguyen i sur., 2015).

3.2 Primjena nanomaterijala za regeneraciju srca

Prije deset godina porastao je interes za primjenu nanočestica željezova oksida u regenerativnoj terapiji srčanog tkiva. Stanice koje sadrže nanočestice željezova oksida specifično reagiraju na vanjsko magnetno polje što omogućuje neinvazivne postupke (McLaughlin i sur., 2016). Napravljene su supramagnetske nanočestice željezova oksida te je prva njihova primjena u regenerativnoj medicini kardiovaskularnog sustava bila označavanje matičnih stanica dobivenih iz tkiva srca. Primjena nanočestica željezova oksida znatno je smanjila ispiranje matičnih stanica iz područja gdje su bile injektirane, odnosno iz područja gdje je došlo do infarkta. Kod štakora s miokardijским infarktom, pokazano je da je smanjeno ispiranje matičnih stanica poboljšalo srčane funkcije te smanjilo ekspanziju infarkta (Cheng i sur., 2010). Također, pokazalo se da nanočestice željezova oksida poboljšava diferencijaciju mezenhimalnih matičnih stanica u stanice tkiva srca prije samog injektiranja u područje infarkta. Matične stanice su bile injektirane nakon miokardijskog infarkta radi poboljšanja regeneracije kardiomiocita. Mezenhimske matične stanice su kultivirane zajedno s kardiomioblastima s nanočesticama željezovog oksida što je rezultiralo povećanim kardiomiocita u mezenhimalnim matičnim stanicama. Kod mišjeg modela miokardijskog

infarkta primjena takvih matičnih stanica pokazala je povoljan učinak na održavanje funkcije srca (Han i sur., 2015).

Nanočestice zlata su često korištene u medicini te se njihova uporaba u regenerativnoj medicini počela proučavati također prije deset godina. Najviše se proučavaju čestice zlata štapićastog oblika te se istražuje njihova primjena kod umjetno napravljenog srčanog tkiva. Inkorporiranje takvih čestica u platforme dovodi do boljeg povezivanja nasadenih kardiomiocita i fibroblasta te dovodi do stvaranja više proteina koji stvaraju pukotinska spojišta što u konačnici dovodi do bolje električne vodljivosti (Dvir i sur., 2011). Isto tako je promatran utjecaj nanočestica zlata kod bioloških platformi pri nasađivanju neonatalnih stanica srca kod stvaranja srčanih zakrpa. Pokazano je da kod platforme koje su sadržavale zlato dolazi do smanjenja praga koji je nužan za ostvarivanje kontrakcije u odnosu na platforme koje nisu sadržavale zlato. Osim navedenog, došlo je do veće ekspresije proteina koji su nužni za stvaranje pukotinskih spojišta i do veće brzine otpuštanja kalcija nakon električnog podražaja (Shevach i sur., 2014.). Također, u svrhu stvaranja injektibilne suspenzije stanica za dopremanje na mjesto infarkta, promatrala se inkorporacija nanočestica zlata u hitozanske polimere. Pokazano je da dolazi do ubrzane ekspresije markera kardiovaskularne linije u mezenhimskim matičnim stanicama i poboljšanja vodljivosti kada su one kultivirane u hitozanskim hidrogelovima zajedno s česticama zlata (Baei i sur., 2016). Promatrana je i uporaba sferičnih nanočestica zlata kod decelulariziranih presadaka radi poboljšanja mehaničkih svojstava. Presadci su integrirani u tkivo aorte kod svinja te se pratila infiltracija stanice i toksičnost samih čestica *in vivo*. Došlo je do infiltracije stanica bez znakova upale ili stenoze (Ostdiek i sur., 2015). Ranije je dokazano da brojni faktori utječu na samu toksičnost nanočestica zlata *in vivo* kao što su veličina, druge tvari s kojima stupaju u interakciju i količina, te je iz tog razloga potrebno provesti brojne eksperimente kako bi se to istražilo (Khlebtsov i Dykman, 2011).

Nadalje, 2008. godine ugljikove nanočestice promatrane su u *in vivo* uvjetima. Pokazano je da koncentracije koje su dovoljne za terapijske svrhe nemaju toksični učinak prilikom primjene u mišu, stoga se očekuju daljnja istraživanja na drugim modelima (Schipper i sur., 2008). Također, potencijalna upotreba ugljikovih nanočestica ispitala se i u *in vitro* uvjetima. Nanočestice u obliku cjevčica promatrane su kao supstrat za rast miocita radi njihove topološke sličnosti izvanstaničnome matriksu i sposobnosti širenja signala između miocita. Kardiomiocite koje su uzgajane na supstratu s nanocjevčicama su imale veću vijabilnost i češće su ulazile u stanični ciklus u odnosu na kardiomiocite uzgajane u

standardnim uvjetima (Martinelli i sur., 2012). Promatrana je i mogućnost dizajniranja umjetnog tkiva s nanocjevčicama zbog njihove velike vodljivosti. Čestice su inkorporirali u hidrogel i uočene su električne veze nalik onima u Purkinjeovim vlaknima. Također, došlo je i do veće ekspresije kontraktilnih proteina i pukotinskih spojišta. Uz to, hidrogel s nanocjevčicama korišten je kao supstrat za uzgoj umjetnog trodimenzionalnog tkiva koje je kucalo pod pulsirajućom stimulacijom (Shin i sur., 2013). Kasnije je napravljeno umjetno tkivo srca koje je sadržavalo želatinozni hidrogel s ugljikovim nanocjevčicama i neonatalne stanice srca štakora te je došlo do spontanijih akcijskih potencijala i kontrakcija *in vitro*. Potom je tkivo zašiveno na mjesto infarkta kod miša uz imunosupresivnu terapiju. Primijećeno je povećanje pukotinskih spojišta i povećanje broja makrofaga na području umetanja presadka. Potrebno je još provesti dodatne eksperimente kako bi se istražili dugoročni učinci u *in vivo* uvjetima (Zhou i sur., 2014).

Alternativni nanomaterijal sačinjen od ugljika je grafen oksid koji se pokazao biokompatibilan i bez kratkoročnih toksičnih posljedica *in vivo*. Tanke niti grafenova oksida korištene su kao transfekcijski agens za gensku terapiju kako bi se poboljšala ekspresija gena vaskularnog endotelnog faktora rasta. Kod štakora je primjena sustava hidrogela s grafenovim oksidom i vaskularnim endotelnim faktorom rasta nakon infarkta povećala kapilarnu gustoću te smanjila ožiljkasto tkivo koje je bilo posljedica infarkta (Paul i sur., 2014). Osim takvog sustava, promatrana je i uporaba grafenovog oksida s mezenhimskim matičnim stanicama, odnosno primjena tog sustava kod mišjeg modela infarkta. Pokazano je da se na taj način smanjuje osjetljivost na oksidativni stres i poboljšavaju funkcije srca te pri tome nije došlo do imunološkog odgovora na grafenov oksid (Park i sur., 2015).

Osim ranije spomenutih injektabilnih nanočestica zlata postoje i brojni drugi injektabilni nanomaterijali koji se koriste u regenerativnoj medicini. Već više od dvadeset godina se proučavaju hidrogelovi peptidnih nanovlakana koji se koriste za dopremanje stanica i faktora rasta koji potiču regeneraciju na mjesto infarkta (Zhang i sur., 1995). Nanovlakna se stvaraju od kratkih oligopeptida koji sadrže nasumične hidrofilne i hidrofobne aminokiseline kako bi što bolje opstajali pri neutralnom pH. U *in vivo* eksperimentima je dokazano da porozni materijal sačinjen od peptida RAD16-II kada je injektiran u zdravi miokardij ne uzrokuje imunološki odgovor (Davis i sur., 2005). Provedeni su eksperimenti na svinjskom modelu infarkta gdje je pokazano da peptidna nanovlakna, osim što su i odličan nosač, poboljšavaju dijasolu time što smanjuju fibrozu (Lin i sur., 2010). Osim RAD16-II proteina, od velikog je interesa i peptid koji ima inkorporirani vaskularni epidermalni faktor

rasta-165, odnosno peptid koji imitira prirodni faktor rasta. Uporabom takvog peptida došlo je do poboljšanja angiogeneze, bez potrebe za dodavanjem egzogenih faktora rasta kod *in vivo* modela (Kumar i sur., 2015). Najveća poteškoća pri primjeni peptidnih nanovlakana je ta što se primjenjuju direktno u miokardij, odnosno prilikom zahvata kada je otvoren prsni koš. Materijal prelazi u gel pri izlaganju neutralnom pH. Radi tog razloga sintetiziran je peptidni polimer sa sekvencama metaloproteinaza koje su razgradive. Time se omogućilo intravenozno injektiranje pri čemu se te nanočestice akumuliraju kod regije infarkta i prelaze u stanje gela zbog aktivnosti proteaza prilikom upale (Nguyen i sur., 2015).

Nanomaterijali se upotrebljavaju zajedno s liposomima. Manipulacijom površine liposoma, odnosno dodavanjem polietilen glikola, dobivena su svojstva koja im omogućuju duže zadržavanje u cirkulaciji (Sahoo i Labhasetwar, 2003, Immordino i sur., 2006). Na takvu površinu mogu se dodavati različita antitijela koja su tkivno specifična kako bi se ciljalo željena tkiva. Budući da dolazi do agregacije trombocita nakon srčanog udara, primjena takvog sustava, odnosno liposoma koja sadrži željeni lijek i specifično prepoznaje trombocite, ima terapijski učinak. Pokazano je da liposomi koji sadrže trombolitički lijek urokinazu i obavijeni su cikličkom arginil glicil aspartatnom kiselinom, koja se specifično veže na receptore na trombocitima, ima isti učinak kao i 'slobodni' lijek pri četiri puta manjoj koncentraciji (Ruis – Esparza i sur., 2013, Zhang i sur., 2018).

4. REGENERACIJA OZLJEDA KOŽE

4.1 Dijabetičko stopalo

Patološke promjene na stopalu kod bolesnika oboljelih od dijabetesa su čest uzrok hospitalizacije i amputacije donjih ekstremiteta (Uckay i sur., 2015). Dolazi do nastanka kroničnih rana koje se kategoriziraju kao čirevi, arterijski čirevi i pritisni čirevi. Čirevi rezultiraju arterijskom i venoznom insuficijencijom i neuropatijom. Radi povišene razine glukoze u krvi dolazi do oštećenja živaca u ekstremitetima. Patološke promjene stanica koje se nalaze u ranama uključuju smanjenu mitotsku aktivnost (Demidova-Rice i sur., 2012, Singer i sur., 2017). Trenutne regulative za liječenje dijabetičkog stopala uključuju sistematsku antimikrobnu terapiju koja je često neučinkovita u srednje teškim i teškim oblicima (Lipsky i sur., 2012, Uckay i sur., 2015). Tijekom proteklih desetljeća nastaju biokompatibilni proizvodi namijenjeni regeneraciji tkiva u obliku kožnih presađaka i kožnih zavoja od kojih su najpoznatiji Apligraf® i Dermagraft® (O'Loughlin i sur., 2010).

4.2 Primjena nanomaterijala za regeneraciju kože – dijabetičko stopalo

Primjena nanomaterijala u svrhu stvaranja kožnih presađaka čija je primjena zacjeljivanje rana započela je prije nekoliko desetljeća, a prvi značajni rezultati dobiveni su već 2001. kada je stvoreno umjetno živo tkivo gdje je platforma sastavljena od nanomaterijala u obliku kožnog presatka koji je ubrzavao zacjeljivanje (Veves i sur., 2001). Danas se takva umjetna živa tkiva koriste kako bi popunila čireve dijabetičkog stopala. Kod tog tkiva umjetni izvanstanični matriks potiče angiogeni odgovor što dovodi do ubrzanja zacjeljivanja (O'Loughlin i sur., 2010). Komercijalno dostupan proizvod koji se koristi je Dermagraft® čija je platforma napravljena od poliglikolne kiseline na koju su nasadjeni neonatalni alogeni fibroblasti (<https://dermagraft.com/>). Međutim, njegova primjena se ne preporučuje kod rana gdje su vidljivi znakovi upale niti kod ekstremiteta koji nemaju dovoljnu dopremu krvi. Također, komercijalno dostupan proizvod Apligraf® sačinjen je od nanočestica kolagena koje pružaju odličnu okosnicu i zaštitu tkiva. Na okosnicu od kolagena postavljeni su ljudski keratinociti i fibroblasti. Već 1998. odobren je za tretiranje dijabetičkih čireva na koži (Zaulyanov i Kirsner, 2007). Kasnije je napravljen koncentriraniji hidrogel

kolagena u svrhu unaprjeđenja mehaničkih svojstava Apligrafa®. Pokazano je da dolazi do željenog poboljšanja te do smanjenja ekspresije TGF- β 1 proteina koji inače usporava proces zacjeljivanja (Helary i sur., 2012).

Nanoceluloza je novitet među materijalima koji pospješuju zacjeljivanje rana. Nanoceluloza sadrži lignocelulozu koja omogućava veliku snagu materijala, a ujedno je i fleksibilna. Može se koristiti u obliku celuloznih nanokristala ili celuloznih nanovlakana (Lin i Dufrense, 2014). U prekliničkim ispitivanjima je pokazano da nanoceluloza znatno skraćuje vrijeme potrebno za reepitelizaciju rana (Hakkarainen i sur., 2016).

4.3 Opekline

Opekline je ozljeda tkiva nastala zbog topline, kemikalija ili električne struje (<http://www.msđ-prirucnici.placebo.hr/msđ-za-pacijente/povređe-i-rane/opekline>). Ovisno o stupnju i zahvaćenom području, moguće je presaditi dio kože pacijenta koja nije funkcionalna zbog nedostatka žlijezda znojnica (Tam i sur., 2013). Takav način zbrinjavanja opekline moguć je jedino kada ima dovoljno zdravog tkiva kod pacijenta. Radi toga napravljene su brojne alternativne strategije za prekrivanje rana i regeneraciju tkiva (Ulrich, 2014).

4.4 Primjena nanomaterijala za regeneraciju kože – opekline

Najpoželjnije svojstvo materijala koji se koristi za regeneraciju tkiva je antimikrobni učinak. Antimikrobni učinak tvari počeo se proučavati prije više od stotinu godina te se u to doba najviše istaknuo srebrov nitrat (Crede, 1884). Ne tako davnim eksperimentima provedenim *in vitro* i *in vivo* se pokazalo da nanočestice srebra svakako imaju mogućnost smanjivanja upale i primjećuje se manji broj makrofaga i neutrofila. Također, inhibiraju stvaranje upalnih citokina i reguliraju ekspresiju metaloproteinaza (Wright i sur., 2002, Tian i sur., 2007). Pokazano je i da biomaterijali u koje su inkorporirane nanočestice srebra osim što djeluju antimikrobno, dodatno pospješuju zacjeljivanje rana. Kod modela štakora došlo je do znatnog ubrzanja zacjeljivanja prilikom primjene hitozana zajedno s nanočesticama srebra u odnosu na primjenu samoga hitozana (Lu i sur., 2012).

Također, koriste se i nanočestice zlata koje su presvučene peptidom surfaktinom koji ima antimikrobna svojstva čime se postiže smanjenje bakterijskih infekcija te poboljšanje zacjeljivanja rana kod modela glodavca čija je rana inficirana bakterijom *Staphylococcus*

aureus otpornom na meticilin (Chen i sur., 2015). Nanočestice zlata su promatrane i zajedno s α -lipoičnom kiselinom i hidrokolooidnom membranom. Pri korištenju takvog sustava došlo je do bržeg zacjeljivanja radi smanjenja oksidativnog stresa te je došlo do brže angiogeneze kod modela glodavca koji je imao kožnu ranu (Kim i sur., 2015).

Dušikov oksid je važan prilikom faze regeneracije rana u tijeku prirodnog zacjeljivanja rana. Iz toga je razloga sintetizirana platforma načinjena od nanočestica s hitozanom koja otpušta dušikov oksid. Takve nanočestice su kod miša uspješno skratile vrijeme potrebno za zatvaranje rane, povećale epitelizaciju i smanjile infekciju uzrokovanu bakterijom *Staphylococcus aureus* otpornom na meticilin (Friedman i sur., 2008). Također, kod dijabetičkog miša s ranom na leđima pokazano je da je učinkovitije liječenje nanočesticama koje otpuštaju dušikov oksid nego što je to kod topijskih terapija otpuštanja dušikova oksida (Bletcher i sur., 2012).

Osim dušikovitog oksida koriste se i oksidi cerija i titanija. Nanočestice obložene cerijevim oksidom imaju antioksidativni učinak te pospješuju zacjeljivanje rana u eksperimentima provedenim na glodavcima. Takav učinak se postiže radi proliferacije keratinocita i fibroblasta (Chigurupati i sur., 2013). Titanijev oksid se u eksperimentima koristio u kombinaciji s hitozanom i pektinom te je *in vitro* pokazano da ima antibakterijska svojstva, a *in vivo* kod miša da potiče epitelizaciju i brže zatvaranje rana (Archana i sur., 2013).

Još jedan tip nanomaterijala koji se koristi radi ubrzanog zacjeljivanja rana su nanovlakna. Nanovlakna hitozana su netoksična, imaju antibakterijska svojstva, biorazgradiva su te imaju biokompatibilna svojstva. Uz to, mogu se i polimerizirati metodom elektrospininga. Tako polimerizirani hitozan korišten je kod miša u svrhu zacjeljivanja rane te je došlo do bržeg zacjeljivanja i proliferacije fibroblasta koja je dovela do regeneracije epiderme te angiogeneze (Tchemtchoua i sur., 2011, Kalantari i sur., 2019). Korištena su i bioaktivna nanovlakna stakla u svrhu zacjeljivanja rana. Korištenjem nanovlakna stakla kao okosnice čija struktura ima određeni uzorak stvaraju se veće pore čime je omogućena brža redistribucija tekućina te je takva struktura sličnije topografije izvanstaničnom matriksu u odnosu na ostale korištene nanomaterijale. Time je omogućen brži rast stanica, odnosno reepitelizacija, odlaganje kolagena i angiogeneza (Xu i sur., 2015).

Nanomaterijali temeljeni na proteinima se koriste i kod opekline. AlloDerm je nanomaterijal koji je baziran na kolagenu i koristi se kod teških opekline. Komercijalno je

dostupan od 2005. godine te je njegova prednost brža migracija fibroblasta i neovaskularizacija (Gabay i Boucher, 2013). Integra je također dvoslojna membrana sačinjena od kolagenskih nanočestica obogaćena glikozaminoglikanima i hondroitin sulfatom-6. Komercijalno je dostupan od 1996., a specifičan je njezin vanjski sloj napravljen od tankog sloja silikona koji osigurava zaštitu od bakterijskih infekcija (Clayman i sur., 2006). Osim kolagena koristi se i fibrin od čijih se nanočestica rade hidrogelovi te se pomoću njih transplantiraju keratinociti. Keratinociti poboljšavaju reepitelizaciju i organizaciju fibroblasta (Hunyadi i sur., 1988). Na nanočestice fibrina moguće je staviti razne lijekove ili faktore rasta kako bi se stimulirali željeni signalni putevi koji pokreću zacjeljivanje rana. *In vitro* su korištene nanočestice fibrina zajedno s angiogenim faktorima rasta te je time došlo do povećanja proliferacije stanica i diferencijacije (Praveen i sur., 2012). Također se koriste i nanomaterijali napravljeni od elastina koji je odgovoran za elastičnost dermisa. Elastin potiče diferencijaciju i migraciju fibroblasta, diferencijaciju keratinocita i vaskulogenezu time što mijenja organizaciju miofibrila glatkih mišića tijekom zacjeljivanja rana (Almine i sur., 2010, Rodriguez-Cabello i sur., 2018). Nanomaterijali se izrađuju metodom elektrospininga alternirajući hidrofobne i hidrofilne domene elastina (Mithieux i sur., 2018). Keratin je još jedan protein čiji nanomaterijali pospješuju reepitelizaciju i ubrzavaju proces zatvaranja rana. U uvjetima *in vivo* je pokazano da nanočestice keratina dobivene iz kose pospješuju reepitelizaciju (Konop i sur., 2017).

5. ZAKLJUČAK

Nanomaterijali su značajno doprinijeli u razvoju brojnih novih tehnologija te tako i u razvoju tehnologija koje su upotrebljavaju u regenerativnoj medicini. Njihova svojstva omogućila su napretke u duljem zadržavanju u cirkulaciji, dopremi do tkiva gdje do kojih veći materijali nisu mogli doprijeti. Također su omogućili stvaranje struktura koje su nalik izvanstaničnom matriksu što prije nije bilo moguće. Radi toga povećala se specifičnost interakcija i izravno djelovanje na stanice sa specifičnim receptorima te upravljanje njihovom orijentacijom, adhezijom i diferencijacijom. Kemijska i magnetska svojstva nanomaterijala omogućila su direktno djelovanje na određene membranske kanale i propusnost fosfolipidnog dvosloja što omogućava kontrolu staničnih procesa.

Unatoč brojnim provedenim eksperimentima *in vitro* i *in vivo* na različitim tipovima tkiva i različitim modelnim organizmima, potrebno je provesti još mnoga istraživanja prije nego što započne primjena na ljudima.

6. LITERATURA

- Aguilar, Z. (2012). *Nanomaterials for medical applications*. Newnes.
- Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L. K., & Farokhzad, O. C. (2008). Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Molecular pharmaceutics*, 5(4), 505-515.
- Almine, J. F., Bax, D. V., Mithieux, S. M., Nivison-Smith, L., Rnjak, J., Waterhouse, A., ... & Weiss, A. S. (2010). Elastin-based materials. *Chemical Society Reviews*, 39(9), 3371-3379.
- Archana, D., Dutta, J., & Dutta, P. K. (2013). Evaluation of chitosan nano dressing for wound healing: Characterization, in vitro and in vivo studies. *International journal of biological macromolecules*, 57, 193-203.
- Baei, P., Jalili-Firoozinezhad, S., Rajabi-Zeleti, S., Tafazzoli-Shadpour, M., Baharvand, H., & Aghdami, N. (2016). Electrically conductive gold nanoparticle-chitosan thermosensitive hydrogels for cardiac tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 63, 131-141.
- Blecher, K., Martinez, L. R., Tuckman-Vernon, C., Nacharaju, P., Schairer, D., Chouake, J., ... & Friedman, A. J. (2012). Nitric oxide-releasing nanoparticles accelerate wound healing in NOD-SCID mice. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(8), 1364-1371.
- Boles, M. A., Ling, D., Hyeon, T., & Talapin, D. V. (2016). The surface science of nanocrystals. *Nature materials*, 15(2), 141-153.
- Chen, W. Y., Chang, H. Y., Lu, J. K., Huang, Y. C., Harroun, S. G., Tseng, Y. T., ... & Chang, H. T. (2015). Self-assembly of antimicrobial peptides on gold nanodots: against multidrug-resistant bacteria and wound-healing application. *Advanced Functional Materials*, 25(46), 7189-7199.

- Cheng, K., Li, T. S., Malliaras, K., Davis, D., Zhang, Y., & Marbán, E. (2010). Magnetic targeting enhances engraftment and functional benefit of iron-labeled cardiosphere-derived cells in myocardial infarction. *Circulation research*, 106(10), 1570.
- Chigurupati, S., Mughal, M. R., Okun, E., Das, S., Kumar, A., McCaffery, M., ... & Mattson, M. P. (2013). Effects of cerium oxide nanoparticles on the growth of keratinocytes, fibroblasts and vascular endothelial cells in cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 34(9), 2194-2201.
- Clayman, M. A., Clayman, S. M., & Mozingo, D. W. (2006). The use of collagen-glycosaminoglycan copolymer (Integra) for the repair of hypertrophic scars and keloids. *Journal of burn care & research*, 27(3), 404-409.
- Credé, C. S. F. (1884). Die Verhütung der Augenentzündung der Neugeborenen ("Ophthalmoblennorrhoea neonatorum"), der häufigsten und wichtigsten Ursache der Blindheit, von Carl SF Credé,... A. Hirschwald.
- Davis, M. E., Motion, J. M., Narmoneva, D. A., Takahashi, T., Hakuno, D., Kamm, R. D., ... & Lee, R. T. (2005). Injectable self-assembling peptide nanofibers create intramyocardial microenvironments for endothelial cells. *Circulation*, 111(4), 442-450.
- Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., & Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Advances in skin & wound care*, 25(7), 304.
- Dobson, J. (2008). Remote control of cellular behaviour with magnetic nanoparticles. *Nature nanotechnology*, 3(3), 139.
- Dubertret, B., Skourides, P., Norris, D. J., Noireaux, V., Brivanlou, A. H., & Libchaber, A. (2002). In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*, 298(5599), 1759-1762.
- Dvir, T., Timko, B. P., Brigham, M. D., Naik, S. R., Karajanagi, S. S., Levy, O., ... & Kohane, D. S. (2011). Nanowired three-dimensional cardiac patches. *Nature nanotechnology*, 6(11), 720-725.

- Dvir, T., Timko, B. P., Kohane, D. S., & Langer, R. (2011). Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nature nanotechnology*, 6(1), 13.
- EC, R. (2009). No 1223/2009 of the European parliament and of the council of 30 November 2009 on cosmetic products. *Off. J. Eur. Union L*, 342, 59.
- Engel, E., Michiardi, A., Navarro, M., Lacroix, D., & Planell, J. A. (2008). Nanotechnology in regenerative medicine: the materials side. *Trends in biotechnology*, 26(1), 39-47.
- Friedman, A. J., Han, G., Navati, M. S., Chacko, M., Gunther, L., Alfieri, A., & Friedman, J. M. (2008). Sustained release nitric oxide releasing nanoparticles: characterization of a novel delivery platform based on nitrite containing hydrogel/glass composites. *Nitric oxide*, 19(1), 12-20.
- Gabay, M., & Boucher, B. A. (2013). An essential primer for understanding the role of topical hemostats, surgical sealants, and adhesives for maintaining hemostasis. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 33(9), 935-955.
- Greenwood, H. L., Thorsteinsdóttir, H., Perry, G., Renihan, J., Singer, P., & Daar, A. (2006). Regenerative medicine: new opportunities for developing countries. *International journal of biotechnology*, 8(1-2), 60-77.
- Guilak, F., Cohen, D. M., Estes, B. T., Gimble, J. M., Liedtke, W., & Chen, C. S. (2009). Control of stem cell fate by physical interactions with the extracellular matrix. *Cell stem cell*, 5(1), 17-26.
- Hakkarainen, T., Koivuniemi, R., Kosonen, M., Escobedo-Lucea, C., Sanz-Garcia, A., Vuola, J., ... & Yliperttula, M. (2016). Nanofibrillar cellulose wound dressing in skin graft donor site treatment. *Journal of Controlled Release*, 244, 292-301.
- Han, J., Kim, B., Shin, J. Y., Ryu, S., Noh, M., Woo, J., ... & Choi, D. (2015). Iron oxide nanoparticle-mediated development of cellular gap junction crosstalk to improve mesenchymal stem cells' therapeutic efficacy for myocardial infarction. *ACS nano*, 9(3), 2805-2819.

- Helary, C., Zarka, M., & Giraud-Guille, M. M. (2012). Fibroblasts within concentrated collagen hydrogels favour chronic skin wound healing. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 6(3), 225-237.
- Hunyadi, J., Farkas, B., Bertenyi, C., Olah, J., & Dobozy, A. (1988). Keratinocyte grafting: a new means of transplantation for full-thickness wounds. *The Journal of dermatologic surgery and oncology*, 14(1), 75-78.
- International Organization for Standardization. (2015). *Nanotechnologies — Vocabulary — Part 2: Nano-objects (ISO Standard No. 80004-2)*. Preuzeto s <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-2:ed-1:v1:en>
- Kalantari, K., Afifi, A. M., Jahangirian, H., & Webster, T. J. (2019). Biomedical applications of chitosan electrospun nanofibers as a green polymer—Review. *Carbohydrate polymers*, 207, 588-600.
- Khlebtsov, N., & Dykman, L. (2011). Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies. *Chemical Society Reviews*, 40(3), 1647-1671.
- Kim, J. E., Lee, J., Jang, M., Kwak, M. H., Go, J., Kho, E. K., ... & Hwang, D. Y. (2015). Accelerated healing of cutaneous wounds using phytochemically stabilized gold nanoparticle deposited hydrocolloid membranes. *Biomaterials science*, 3(3), 509-519.
- Kohane, D. S. (2007). Microparticles and nanoparticles for drug delivery. *Biotechnology and bioengineering*, 96(2), 203-209.
- Konop, M., Sulejczak, D., Czuwara, J., Kosson, P., Misicka, A., Lipkowski, A. W., & Rudnicka, L. (2017). The role of allogenic keratin-derived dressing in wound healing in a mouse model. *Wound Repair and Regeneration*, 25(1), 62-74.
- Krukemeyer, M. G., Krenn, V., Huebner, F., Wagner, W., & Resch, R. (2015). History and possible uses of nanomedicine based on nanoparticles and nanotechnological progress. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 6(1).

- Kumar, V. A., Taylor, N. L., Shi, S., Wang, B. K., Jalan, A. A., Kang, M. K., ... & Hartgerink, J. D. (2015). Highly angiogenic peptide nanofibers. *ACS nano*, 9(1), 860-868.
- Lin, N., & Dufresne, A. (2014). Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*, 59, 302-325.
- Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Cornia, P. B., Pile, J. C., Peters, E. J., Armstrong, D. G., ... & Pinzur, M. S. (2012). 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clinical infectious diseases*, 54(12), e132-e173.
- Lu, L., Liu, M., Sun, R., Zheng, Y., & Zhang, P. (2015). Myocardial infarction: symptoms and treatments. *Cell biochemistry and biophysics*, 72(3), 865-867.
- Lu, R., Yang, D., Cui, D., Wang, Z., & Guo, L. (2012). Egg white-mediated green synthesis of silver nanoparticles with excellent biocompatibility and enhanced radiation effects on cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 7, 2101.
- Lutolf, M. P., Gilbert, P. M., & Blau, H. M. (2009). Designing materials to direct stem-cell fate. *Nature*, 462(7272), 433-441.
- Lövestam, G., Rauscher, H., Roebben, G., Klüttgen, B. S., Gibson, N., Putaud, J. P., & Stamm, H. (2010). Considerations on a definition of nanomaterial for regulatory purposes. *Joint Research Centre (JRC) Reference Reports*, 80, 00-41.
- Markides, H., Rotherham, M., & El Haj, A. J. (2012). Biocompatibility and toxicity of magnetic nanoparticles in regenerative medicine. *Journal of Nanomaterials*, 2012.
- Martinelli, V., Cellot, G., Toma, F. M., Long, C. S., Caldwell, J. H., Zentilin, L., ... & Mestroni, L. (2012). Carbon nanotubes promote growth and spontaneous electrical activity in cultured cardiac myocytes. *Nano letters*, 12(4), 1831-1838.
- Mason, C., & Dunnill, P. (2008). A brief definition of regenerative medicine.
- Mclaughlin, S., Podrebarac, J., Ruel, M., Suuronen, E. J., McNeill, B., & Alarcon, E. I. (2016). Nano-engineered biomaterials for tissue regeneration: what has been achieved so far?. *Frontiers in Materials*, 3, 27.

Medicinski priručnik. <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/povrede-i-rane/opekline>

Meyer, R. A., & Green, J. J. (2016). Shaping the future of nanomedicine: anisotropy in polymeric nanoparticle design. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(2), 191-207.

Michalet, X., Pinaud, F. F., Bentolila, L. A., Tsay, J. M., Doose, S. J. J. L., Li, J. J., ... & Weiss, S. (2005). Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *science*, 307(5709), 538-544.

Mithieux, S. M., Tu, Y., Korkmaz, E., Braet, F., & Weiss, A. S. (2009). In situ polymerization of tropoelastin in the absence of chemical cross-linking. *Biomaterials*, 30(4), 431-435.

Mitragotri, S., & Lahann, J. (2009). Physical approaches to biomaterial design. *Nature materials*, 8(1), 15-23.

Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P., ... & Thompson, M. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature materials*, 8(7), 543-557.

Nguyen, M. M., Carlini, A. S., Chien, M. P., Sonnenberg, S., Luo, C., Braden, R. L., ... & Christman, K. L. (2015). Enzyme-Responsive Nanoparticles for Targeted Accumulation and Prolonged Retention in Heart Tissue after Myocardial Infarction. *Advanced materials*, 27(37), 5547-5552.

Nguyen, M. M., Gianneschi, N. C., & Christman, K. L. (2015). Developing injectable nanomaterials to repair the heart. *Current opinion in biotechnology*, 34, 225-231.

O'Loughlin, A., McIntosh, C., Dinneen, S. F., & O'Brien, T. (2010). Basic concepts to novel therapies: a review of the diabetic foot. *The international journal of lower extremity wounds*, 9(2), 90-102.

Orive, G., Anitua, E., Pedraz, J. L., & Emerich, D. F. (2009). Biomaterials for promoting brain protection, repair and regeneration. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(9), 682-692.

- Ostdiek, A. M., Ivey, J. R., Grant, D. A., Gopaldas, J., & Grant, S. A. (2015). An in vivo study of a gold nanocomposite biomaterial for vascular repair. *Biomaterials*, 65, 175-183.
- Owens III, D. E., & Peppas, N. A. (2006). Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*, 307(1), 93-102.
- Park, J., Kim, B., Han, J., Oh, J., Park, S., Ryu, S., ... & Choi, D. (2015). Graphene oxide flakes as a cellular adhesive: prevention of reactive oxygen species mediated death of implanted cells for cardiac repair. *ACS nano*, 9(5), 4987-4999.
- Paul, A., Hasan, A., Kindi, H. A., Gaharwar, A. K., Rao, V. T., Nikkhah, M., ... & Khademhosseini, A. (2014). Injectable graphene oxide/hydrogel-based angiogenic gene delivery system for vasculogenesis and cardiac repair. *ACS nano*, 8(8), 8050-8062.
- Petros, R. A., & DeSimone, J. M. (2010). Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nature reviews Drug discovery*, 9(8), 615-627.
- Praveen, G., Sreerekha, P. R., Menon, D., Nair, S. V., & Chennazhi, K. P. (2012). Fibrin nanoconstructs: a novel processing method and their use as controlled delivery agents. *Nanotechnology*, 23(9), 095102.
- Rodríguez-Cabello, J. C., De Torre, I. G., Ibañez-Fonseca, A., & Alonso, M. (2018). Bioactive scaffolds based on elastin-like materials for wound healing. *Advanced drug delivery reviews*, 129, 118-133.
- Ruiz-Esparza, G. U., Flores-Arredondo, J. H., Segura-Ibarra, V., Torre-Amione, G., Ferrari, M., Blanco, E., & Serda, R. E. (2013). The physiology of cardiovascular disease and innovative liposomal platforms for therapy. *International journal of nanomedicine*, 8, 629.
- SCoEaNIHR, E. S. (2010). Scientific Basis for the Definition of the Term “nanomaterial”. European Commission, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENHR).
- Sahoo, S. K., & Labhasetwar, V. (2003). Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug discovery today*, 8(24), 1112-1120.

- Schipper, M. L., Nakayama-Ratchford, N., Davis, C. R., Kam, N. W. S., Chu, P., Liu, Z., ... & Gambhir, S. S. (2008). A pilot toxicology study of single-walled carbon nanotubes in a small sample of mice. *Nature nanotechnology*, 3(4), 216.
- Scientific Committee on Consumer Products. (2007). *Opinion on Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products*. European Commission.
- Shah, B. S., Clark, P. A., Moioli, E. K., Stroschio, M. A., & Mao, J. J. (2007). Labeling of mesenchymal stem cells by bioconjugated quantum dots. *Nano Letters*, 7(10), 3071-3079.
- Shevach, M., Fleischer, S., Shapira, A., & Dvir, T. (2014). Gold nanoparticle-decellularized matrix hybrids for cardiac tissue engineering. *Nano letters*, 14(10), 5792-5796.
- Shin, S. R., Jung, S. M., Zalabany, M., Kim, K., Zorlutuna, P., Kim, S. B., ... & Wan, K. T. (2013). Carbon-nanotube-embedded hydrogel sheets for engineering cardiac constructs and bioactuators. *ACS nano*, 7(3), 2369-2380.
- Singer, A. J., Tassiopoulos, A., & Kirsner, R. S. (2017). Evaluation and management of lower-extremity ulcers. *New England Journal of Medicine*, 377(16), 1559-1567.
- Solanki, A., Kim, J. D., & Lee, K. B. (2008). Nanotechnology for regenerative medicine: nanomaterials for stem cell imaging.
- Sonavane, G., Tomoda, K., & Makino, K. (2008). Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 66(2), 274-280.
- Sudha, P. N., Sangeetha, K., Vijayalakshmi, K., & Barhoum, A. (2018). Nanomaterials history, classification, unique properties, production and market. In *Emerging Applications of Nanoparticles and Architecture Nanostructures* (pp. 341-384). Elsevier.
- Sutton, M. G. S. J., & Sharpe, N. (2000). Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*, 101(25), 2981-2988.

- Tam, J., Wang, Y., Farinelli, W. A., Jiménez-Lozano, J., Franco, W., Sakamoto, F. H., ... & Anderson, R. R. (2013). Fractional skin harvesting: autologous skin grafting without donor-site morbidity. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open*, 1(6).
- Tchemtchoua, V. T., Atanasova, G., Aqil, A., Filée, P., Garbacki, N., Vanhooteghem, O., ... & Poumay, Y. (2011). Development of a chitosan nanofibrillar scaffold for skin repair and regeneration. *Biomacromolecules*, 12(9), 3194-3204.
- Tekinay, A. B. (2019). Nanomaterials for Regenerative Medicine. In *Nanomaterials for Regenerative Medicine* (pp. 1-45). Humana, Cham.
- Ulrich, M. M. (2014). Science, Practice and education regenerative medicine in burn wound healing: Aiming for the perfect skin. *EWMA Journal*, 14(1), 25-27.
- Uçkay, I., Aragón-Sánchez, J., Lew, D., & Lipsky, B. A. (2015). Diabetic foot infections: what have we learned in the last 30 years?. *International Journal of Infectious Diseases*, 40, 81-91.
- Veves, A., Falanga, V., Armstrong, D. G., & Sabolinski, M. L. (2001). Graftskin, a human skin equivalent, is effective in the management of noninfected neuropathic diabetic foot ulcers: a prospective randomized multicenter clinical trial. *Diabetes care*, 24(2), 290-295.
- Wang, B., Zhang, L., Bae, S. C., & Granick, S. (2008). Nanoparticle-induced surface reconstruction of phospholipid membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(47), 18171-18175.
- Wright, J. B., Lam, K., Buret, A. G., Olson, M. E., & Burrell, R. E. (2002). Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. *Wound Repair and Regeneration*, 10(3), 141-151.
- Xu, H., Lv, F., Zhang, Y., Yi, Z., Ke, Q., Wu, C., ... & Chang, J. (2015). Hierarchically micro-patterned nanofibrous scaffolds with a nanosized bio-glass surface for accelerating wound healing. *Nanoscale*, 7(44), 18446-18452.

- You, J. O., Rafat, M., Ye, G. J., & Auguste, D. T. (2011). Nanoengineering the heart: conductive scaffolds enhance connexin 43 expression. *Nano letters*, 11(9), 3643-3648.
- Zaulyanov, L., & Kirsner, R. S. (2007). A review of a bi-layered living cell treatment (Apligraf®) in the treatment of venous leg ulcers and diabetic foot ulcers. *Clinical interventions in aging*, 2(1), 93.
- Zhang, S. (2003). Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nature biotechnology*, 21(10), 1171-1178.
- Zhang, S., Holmes, T. C., DiPersio, C. M., Hynes, R. O., Su, X., & Rich, A. (1995). Self-complementary oligopeptide matrices support mammalian cell. *Biomaterials*, 16(18), 1385-1393.
- Zhou, J., Chen, J., Sun, H., Qiu, X., Mou, Y., Liu, Z., ... & Tang, R. (2014). Engineering the heart: evaluation of conductive nanomaterials for improving implant integration and cardiac function. *Scientific reports*, 4, 3733.

7. SAŽETAK

Nanomaterijali su otvorili brojne mogućnosti u regenerativnoj medicini srčanog mišića nakon infarkta te kože u slučaju dijabetičkog stopala te nakon opekline. Kod regeneracije srčanog mišića nanomaterijali s magnetskim svojstvima su omogućili manipulaciju korištenjem vanjske magnetne sile. Proučavanjem raznih nanomaterijala pokazano je da se njihovim korištenjem povećava vodljivost zbog stvaranja većeg broja pukotinskih spojišta, smanjivanja praga koji je nužan za postizanje kontrakcije, smanjenja osjetljivosti na oksidativni stres, povećanja angiogeneze i dužeg zadržavanja tkivno specifičnih lijekova. Za regeneraciju kože postoje već komercijalno dostupni lijekovi bazirani na nanomaterijalima koji omogućuju brže zacjeljivanje rane, smanjenje upale i brže angiogeneze.

8. SUMMARY

Nanomaterials have opened up numerous possibilities in the regenerative medicine of the heart muscle after a heart attack and skin in the case of diabetic foot and after burns. In the regeneration of the heart muscle, nanomaterials with magnetic properties enabled manipulation using an external magnetic force. Studies of various nanomaterials have shown that their use increases conductivity due to the formation of more crack junctions, lowering the threshold required to achieve contraction, reducing sensitivity to oxidative stress, increasing angiogenesis and longer retention of tissue-specific drugs. For skin regeneration, there are already commercially available drugs based on nanomaterials that allow faster wound healing, reduced inflammation and faster angiogenesis.