

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНЕ НЕКОМЕРЦІЙНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ»

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ОРЕЛ ВАЛЕРІЙ БІНГОВИЧ

УДК 616-006:615.849:57.04:66.017:004.93 (043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ
РОЗРОБКА БІОІНЖЕНЕРНИХ ЗАСОБІВ МАГНІТНОЇ
НАНОТЕРАНОСТИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЗЛОЯКІСНОЇ
ПУХЛИНИ

16 – Хімічна та біоінженерія
163 – Біомедична інженерія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ В.Б. Орел

Науковий керівник: Галкін Олександр Юрійович, д.б.н., проф.

Київ 2025

АНОТАЦІЯ

Орел В.Б. Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики експериментальної злоякісної пухлини. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 163 – Біомедична інженерія. Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Київ, 2025.

Актуальність теми дослідження. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у світі щороку виявляється близько 20 мільйонів нових випадків злоякісних новоутворень, з яких 9,7 мільйонів випадків є летальними. За даними Національного канцер-реєстру України, загальна кількість випадків онкологічного захворювання сягнула понад 106 тисяч за 2022 рік, а частка хворих, що не прожили одного року, з числа вперше виявлених перевищила 23%. Найбільша частка у нозологічній структурі зареєстрованих випадків у жінок припадає на злоякісні новоутворення грудної залози, з якими пов'язано майже 15% усіх смертей від злоякісних новоутворень. Результати попередніх досліджень вказують на вищі показники відповіді пухлини на лікування та виживаності у пацієнтів зі злоякісною пухлиною грудної залози після хіміотерапії у комбінації з регіональною індукційною помірною гіпертермією ($\leq 42\text{ }^{\circ}\text{C}$), ніж у тих, хто отримував лише хіміотерапію. Індукційна гіпертермія використовується для лікування відносно невеликих цільових об'ємів, таких як первинна пухлина, група регіонарних лімфатичних вузлів або солітарний віддалений метастаз. Однак обмеження цього підходу все ще залишаються пов'язаними з локальним впливом на пухлину, гетерогенністю, притаманною злоякісним пухлинам, і побічними ефектами підвищення температури у навколишніх тканинах.

Використання магнітних наночастинок у комбінації з індукційною помірною гіпертермією охоплює широкий спектр застосувань для поєднання діагностики та лікування – тераностики злоякісних новоутворень. Магнітні наночастинок,

доставлені до пухлини під впливом постійних магнітних полів, підвищують контрастність медичного зображення завдяки різниці в інтенсивності сигналу при магнітно-резонансній томографії, ехогенності й жорсткості при ультразвуковому дослідженні, рентген-щільності при рентгенівській візуалізації між зоною інтересу пухлини та навколишніми тканинами, а також таргетно ініціюють протипухлинний вплив на злоякісні клітини за рахунок магніто-механохімічних і теплових ефектів під дією постійного магнітного та електромагнітного полів. При цьому, цільова температура, необхідна для протипухлинного впливу при індукційній помірній гіпертермії з магнітними наночастинками, є близькою до значення больового порогу, спричиненого нагріванням м'яких тканин у грудній клітці людини. Дослідження зосереджені на комбінації магніто-механохімічних і теплових ефектів демонструють перспективу для подальшої трансляції у клінічне застосування. Сили, які створюють магнітні наночастинки під дією постійного магнітного поля, є значно меншими за компресійну силу під час мамографії, що викликає біль у жінок, проте цих сил достатньо для впливу на злоякісні клітини. Персоналізоване планування індукційної помірної гіпертермії з магнітними наночастинками для кожного пацієнта вимагає визначення розподілу магнітних наночастинок та біомеханічних параметрів пухлини. Водночас відомі біоінженерні засоби достатньо обмежені щодо можливості персоналізації магніто-механохімічних ефектів у злоякісних пухлинах, що призводить до звуження області використання магнітної нанотераностики злоякісних новоутворень.

Метою роботи було обґрунтувати та розробити біоінженерні засоби з магнітними наночастинками для реалізації протипухлинного впливу і радіологічної візуалізації експериментальної злоякісної пухлини.

Для досягнення поставленої мети було вирішено наступні **завдання**.

1. Проаналізувати наукову та патентну літературу щодо магніто-механохімічних ефектів, ініційованих впливом магнітних наночастинок з електромагнітним опроміненням, і радіологічної візуалізації злоякісних пухлин.

2. Розробити дизайн пристрою для реєстрації та дослідити механолюмінесценцію злоякісних клітин, ініційовану впливом магнітних наночастинок і ротаційного магнітного поля.

3. Розробити дизайн тканинноквівалентного фантома грудної залози, провести його радіологічну візуалізацію та текстурний аналіз отриманих зображень для персоналізованого планування індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем і магнітними наночастишками.

4. Дослідити комбінований вплив індукційної помірної гіпертермії, постійного магнітного поля з застосуванням магнітно-дипольного аплікатора та магнітних наночастинок на радіологічну візуалізацію, текстурні параметри отриманих зображень, редокс-стан і кінетику росту експериментальної моделі злоякісної пухлини.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше розроблено пристрій та проведено реєстрацію ініційованої впливом магнітних наночастинок і ротаційного магнітного поля механолюмінесценції злоякісних клітин карциносаркоми грудної залози Уокер-256 у рідкому середовищі. Уперше розроблено фантом грудної залози зі злоякісними клітинами аденокарциноми грудної залози MCF-7 для персоналізації планування індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем та магнітними наночастишками, проведено його радіологічну візуалізацію із застосуванням текстурного аналізу розподілу кластерів магнітних наночастинок на отриманих зображеннях. Уперше досліджено вплив магнітних наночастинок на основі оксиду заліза і золота, навантажених протипухлинним препаратом доксорубіцином, у комбінації з магнітно-дипольним аплікатором для індукційної помірної гіпертермії на радіологічну візуалізацію, текстурні параметри, рівні убісеміхінону, супероксидного радикала, оксиду азоту та кінетику росту карциносаркоми Уокер-256. Отримані результати доповнюють сучасні біоінженерні рішення щодо персоналізації магніто-механохімічного ефекту магнітних наночастинок під впливом електромагнітного опромінення при тераностиці злоякісних пухлин.

Практичне значення отриманих результатів. Оцінка

механолюмінесценції з використанням запропонованого пристрою може слугувати додатковим кількісним параметром магніто-механохімічного ефекту в злоякісних клітинах при магнітній нанотераностиці для покращення точності медичної діагностики й терапії. Запропонована конструкція фантома може бути використана для планування індукційної помірної гіпертермії злоякісних новоутворень грудної залози, де магнітні наночастинки слугують маркером на рентгенівських та ультразвукових зображеннях і водночас локалізатором для впливу електромагнітного опромінення. Результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що вплив магнітних наночастинок на основі оксиду заліза та постійного магнітного поля з застосованим магнітно-дипольним аплікатором призводив до зниження величини модуля Юнга пухлини у 2,7 раза при ультразвуковій візуалізації, більш виражених некротичних змін та інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 на 17% у експоненціальній фазі, порівняно з впливом магнітних наночастинок ($p < 0,05$). Вплив магнітних наночастинок на основі оксиду заліза і золота, навантажених протипухлинним препаратом доксорубіцином, у комбінації з магнітно-дипольним аплікатором для індукційної помірної гіпертермії ініціював збільшення в 1,6 раза медіани інтенсивності та менше абсолютне значення коефіцієнта асиметрії зони інтересу пухлини при магнітно-резонансній візуалізації, підвищення рівнів супероксидного радикала в 1,4 раза, убісеміхінону – у 2,1 раза, зниження рівня вільного радикала оксиду азоту в 1,2 раза та на 14% більш виражене інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 у термінальній фазі, ніж самостійна дія офіційного доксорубіцину ($p < 0,05$).

Розроблені біоінженерні засоби з магнітними нанокompозитами використано для технології нанотераностики в лабораторії електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона Національної академії наук України та у викладанні дисциплін “Біофізика” та “Радіаційна безпека і дозиметрія” для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальностей

163 – Біомедична інженерія та 122 – Комп'ютерні науки на факультеті біомедичної інженерії Національного технічного університету України «КПІ ім. Ігоря Сікорського».

Основні положення роботи викладено у 20 наукових працях, у тому числі у 5 статтях, включених до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science, в 1 статті у науковому фаховому виданні України у галузі біомедичної інженерії, в 1 статті у науковому фаховому виданні України у галузі медичних наук, у 2 патентах України та в 11 тезах конгресів, з'їздів, наукових конференцій.

Перший розділ дисертаційної роботи «Аналітичний огляд літератури» наводить аналіз наукової та патентної літератури щодо обґрунтування використання магнітних наночастинок для протипухлинного впливу на основі магніто-механохімічного та теплового ефектів при електромагнітному опроміненні і методів радіологічної візуалізації злоякісних пухлин.

Другий розділ дисертаційної роботи «Матеріали та методи» включає опис дизайну дослідження, характеристик використаних матеріалів, об'єктів дослідження, запропонованої конструкції та застосування пристрою для реєстрації механолюмінесценції, ініційованої магнітними наночастинок і ротаційним магнітним полем у біологічних об'єктах, розробленого фантома грудної залози та використаного магнітно-дипольного аплікатора для персоналізації індукційної помірної гіпертермії з магнітними наночастинок і постійним магнітним полем. Описано використані методи медичної радіологічної візуалізації (рентгенівський цифровий томосинтез, ультразвукова еластографія, рентгенівська комп'ютерна та магнітно-резонансна томографія) і текстурного аналізу отриманих зображень.

Третій розділ дисертаційної роботи «Реєстрація механолюмінесценції злоякісних клітин» містить порівняння спонтанної хемілюмінесценції та механолюмінесценції, ініційованої ротаційним магнітним полем клітин карциносаркоми Уокер-256 з магнітними наночастинок.

Четвертий розділ дисертаційної роботи «Протипухлинний вплив індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем і магнітними наночастинок та радіологічна візуалізація фантома грудної залози» представляє результати аналізу

рентгенівських цифрових томосинтетичних зображень та ультразвукових еластограм фантома грудної залози, а також впливу індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем і магнітними наночастинками на життєздатність злоякісних клітин аденокарциноми грудної залози людини лінії MCF-7.

П'ятий розділ дисертаційної роботи «Протипухлинний вплив індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем і магнітними наночастинками та радіологічна візуалізація карциносаркоми Уокер-256» відображає результати аналізу ультразвукових еластограм, магнітно-резонансних томографічних зображень і впливу індукційної помірної гіпертермії з використанням магнітно-дипольного аплікатора та магнітними наночастинками на редокс-стан, кінетику росту і морфологічні зміни експериментальної моделі злоякісної пухлини карциносаркоми Уокер-256.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання; злоякісна пухлина; злоякісні клітини; індукційна помірна гіпертермія; магнітне поле; магнітно-резонансна томографія; медичні зображення; наночастинки; обробка зображень; протипухлинний ефект; текстурний аналіз; ультразвукове дослідження.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

У яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Orel V.E.; Tselepi M.; Mitrelias T.; Zabolotny M.; Krotevich M.; Shevchenko A.; Rykhalskyi A.; Romanov A.; **Orel V.B.**; Burlaka A.; Lukin S.; Stegnii V. **Nonlinear magnetochemical effects in nanotherapy of Walker-256 carcinosarcoma**, ACS Applied Bio Materials, 2, 9, 3954–3963, 2019. DOI: 10.1021/acsabm.9b00526. (Q2 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
2. Orel V.E.; Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; **Orel V.B.**; Burlaka A.P.; Virko S.V. **Magneto-mechanical effects of magnetite nanoparticles on Walker-256 carcinosarcoma heterogeneity, redox state and growth modulated by an inhomogeneous stationary magnetic field**, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 538, 168314, 2021. DOI: 10.1016/j.jmmm.2021.168314. (Q2 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
3. **Orel V.B.**; Papazoglou A.S.; Tsagkaris C.; Moysidis D.V.; Papadakos S.; Galkin O.Y.; Orel V.E.; Syvak L.A. **Nanotherapy based on magneto-mechanochemical modulation of tumor redox state**. Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology, 15, 3, e1868, 2023. DOI: 10.1002/wnan.1868. (Q1 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
4. **Orel V.B.**; Galkin O.Yu.; Orel V.E.; Dasyukevich O.Yo.; Rykhalskyi O.Yu.; Kurapov Yu.A.; Litvin S.A.; Yukhymchuk V.O.; Isayeva O.F.; Syvak L.A.; Dedkov A.G. **Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells induced by magneto-mechanochemical effects of Fe₃O₄–Au nanocomposite**. Journal of Mechanics in Medicine and Biology. 23, 6, 2340027, 2023. DOI: 10.1142/S0219519423400274. (Q4 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
5. **Orel V.B.**; Kurapov Y.A.; Lytvyn S.Y.; Orel V.E.; Galkin O.Y.; Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; Diedkov A.G.; Ostafiichuk V.V.; Lyalkin S.A.; Burlaka A.P.; Virko S.V.; Skoryk M.A.; Zagorodnii V.V.; Stelmakh Y.A.; Didikin G.G.; Oranska O.I.; Calcagnile L.; Manno D.E.; Rinaldi R.; Nedostup Y.V. **Characterization and antitumor effect of doxorubicin-loaded Fe₃O₄-Au nanocomposite synthesized by electron beam evaporation for magnetic**

nanotheranostics. RSC Advances 14, 20, 14126–14138, 2024. DOI: 10.1039/d4ra01777c. (Q1 згідно з SCImago Journal and Country Rank).

6. Орел В.Е.; Динник О.Б.; Сивак Л.А.; **Орел В.Б.**; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; Галкін О.Ю.; Дєдков А.Г.; Головка Т.С. **Зміни жорсткості та морфологічні особливості карциносаркоми Уоркер-256 з магнітними наночастинками під впливом постійного магнітного поля**. Клінічна онкологія 13, 1, 40–44, 2023. DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.49-1.29200. (наукове фахове видання України категорії «Б» за спеціальністю «Медицина»).
7. **Орел В.Б.** Дослідження механолюмінесценції середовища з магнітними наночастинками, Біомедична інженерія і технологія, 13, 1, 33–41, 2024. DOI: 10.20535/2617-8974.2024.13.298380. (наукове фахове видання України категорії «Б» за спеціальністю «Біомедична інженерія»).
8. Орел В.Е.; **Орел В.Б.** Патент України на корисну модель «**Пристрій для магнітної нанотерапії**» № 79982, Номер заявки: u201212717, Опубліковано 13.05.2013, бюл. № 9/2013.
9. Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; **Орел В.Б.**, Патент України на винахід «**Система для досліджень у шарах фантома грудної залози**» № 127977, Номер заявки: a202103794. Опубліковано 28.02.2024, бюл. № 9/2024.

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; **Орел В.Б.**, Бурлака А.П., **Дистанційно керована протипухлинна активність магнітного нанокomплексу**, XIV з'їзд онкологів та радіологів України, 30 вересня–2 жовтня 2021 р., Київ, Україна. С. 392–393.
2. **Орел В.Б.**; Галкін О.Ю.; Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; Курапов Ю.А.; Литвин С.Є. **Комбінований вплив нанокomплексу Fe₃O₄-Au з доксорубіцином та електромагнітного випромінювання на тварин з карциносаркомою Уоркер-256**. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 19

травня 2022 р., Харків, Україна. С. 261. Доступно за посиланням <https://pat.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2022/04/zbirnyk-materialiv-konferentsii-2-19.05.2022.pdf>

3. **Orel V.**; Dynnyk O.; Orel V.; Galkin O.; Kurapov Yu.; Lytvyn S.; Dasyukevich O.; Rykhalskyi O. **Ultrasound elastography of Walker-256 carcinosarcoma with Fe₃O₄-Au nanoparticles under magnetic force.** International Union for Physical and Engineering Sciences in Medicine (IUPESM) World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, 12–17 червня 2022 р., Сінгапур, Сінгапур. С. 64–65. Доступно за посиланням: https://cris.vub.be/ws/portalfiles/portal/94999070/WC2022_Oral_Abstracts.pdf
4. **Orel V.B.**; Ashykhmin A.V.; Orel V.E.; Rykhalskyi O.Yu.; Golovko T.S., **Texture analysis for nonlinear characterization of ¹⁸F-FDG PET/CT images in patients with rectal cancer: Comparison between tumor and peritumoral tissues,** European Congress of Radiology, 13–17 липня 2022 р., Відень, Австрія. Insights into Imaging 13, 205, С. 236., DOI: 10.1186/s13244-022-01337-x.
5. **Orel V.B.**; Galkin O.Yu.; Orel V.E.; Dasyukevich O.Yo.; Rykhalskyi O.Yu.; Syvak L.A.; Kurapov Yu. A.; Lytvyn S.Ye. **Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells *in vitro* by magneto-mechanochemical effects.** S8M: Cell and molecular biophysics and biomechanics, XXII International Conference on Mechanics in Medicine and Biology, 19–21 вересня 2022 р., Болонський університет, Болонья, Італія. С. 42. DOI: 10.6092/unibo/amsacta/7024.
6. **Orel V.B.**; Matveichuk K.S.; Orel V.E.; Galkin O.Yu.; Rykhalskyi O.Yu.; Dasyukevich O.Yo.; Golovko T.S. **Texture Analysis of T₁-weighted and STIR magnetic resonance images for Lewis lung carcinoma nanotheranostics.** 2022 IEEE 41st International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO), 10–14 жовтня 2022 р., Київ, Україна. С. 314–317. DOI: 10.1109/ELNANO54667.2022.9927034.
7. **Orel V.B.**; Dynnyk O.B.; Orel V.E.; Galkin O.Yu.; Dayukevich O.I.; Rykhalskyi O.Y.; Syvak L.A.; Dedkov A.G.; Golovko T.S. **Effects of magnetic force mediated by Fe₃O₄ nanoparticles on breast cancer animal model.**

- Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії», 15–16 грудня 2022 р., Київ, Україна. С. 30. DOI: 10.20535/biomedconf.2022.15122022. Доступно за посиланням: https://elartu.tntu.edu.ua/bitstream/lib/39550/1/Book_of_abstracts.pdf
8. Matveichuk K.S.; **Orel V.B.**; Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; Orel V.E.; Diedkov A.G. **Texture analysis of ultrasonic stiffness images of sarcoma-45 tissues irradiated by electromagnetic field**. 13th International Conference on Biotechnology and Bioengineering, 28 вересня–1 жовтня 2023 р., С. 75–76. Доступно за посиланням: <https://icbb.apaset.edu.pl/program/pdf/>
9. **Орел В.Б.**; Дасюкевич О.Й.; Орел В.Е.; Галкін О.Ю.; Дунаєвський В.І.; Назарчук С.С.; Котовський В.Й.; Рихальський О.Ю.; Лялькін С.А.; Гарманчук Л.В., **Тканиноеквівалентний фантом грудної залози для магнітної гіпертермії під впливом електромагнітного та неоднорідного стаціонарного магнітного поля**. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії», 13–14 грудня 2023 р., Київ, Україна. С. 171. Доступно за посиланням: https://drive.google.com/file/d/1_dRjzoWMM8j6wNzm4K10b4Yn9ryt6V8T/view
10. Шаблій О.; **Орел В.**; Дасюкевич О.; Рихальський О.; Дєдков А., **Індуктивна гіпертермія злоякісних пухлин**. III Міжнародна науково-технічна конференція «Сучасні технології біомедичної інженерії», 8–10 травня 2024 р., Одеса, Україна. С. 41–42. Доступно за посиланням: <https://press.vntu.edu.ua/index.php/vntu/catalog/view/830/1450/2721-1>
11. **Орел В.Б.**, Дєдков А., Орел В.Е., Дасюкевич О., Рихальський О., **Дослідження впливу індукційної помірної гіпертермії на гетерогенність МРТ-зображень саркоми-45**. XI Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку, новітні технології», 25–27 вересня 2024 р., Київ, Україна. С. 275–280. DOI: 10.17721/3041-1491/2024.11-36. Доступно за посиланням: https://conference.rb.knu.ua/all_book_2024.pdf

ABSTRACT

Orel V.B. Design of bioengineering devices for cancer magnetic nanotheranostics in experimental models of a malignant tumour. – Qualification scientific work in manuscript form.

Thesis submitted for the scientific degree of Doctor of Philosophy in speciality 163 – Biomedical Engineering. National Technical University of Ukraine “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”, Kyiv, 2025.

Relevance of research. According to the World Health Organization, an estimated 20 million new cancer cases are diagnosed globally each year, alongside 9.7 million related deaths. Data from the National Cancer Registry of Ukraine indicates that the total number of cancer cases exceeded 106,000 in 2022, with over 23% of newly diagnosed patients not reaching one-year survival. Amongst women, the largest proportion of cases was attributed to breast cancer, accounting for nearly 15% of all cancer-related deaths. Results from previous clinical trials have shown higher response and survival rates in patients with breast cancer after receiving chemotherapy combined with regional inductive moderate hyperthermia ($\leq 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) than in those given chemotherapy alone. Inductive hyperthermia is used for relatively small target volumes, such as a primary tumour, group of regional lymph nodes, or solitary metastasis. However, limitations to this approach are associated with the targeted drug delivery, inherent heterogeneity of malignant tumours, and appreciable rises in the temperature of the surrounding tissues.

The application of inductive moderate hyperthermia with magnetic nanoparticles offers a theranostic approach that combines cancer diagnostics and therapeutics into a single platform. When magnetic nanoparticles are delivered to the tumour under the influence of stationary magnetic fields, they enhance the contrast in medical images due to differences in signal intensity on magnetic resonance imaging, differences in echogenicity and stiffness on ultrasound imaging, or differences in radiodensity on medical X-ray imaging between the tumour and the surrounding tissues. At the same time, magnetic nanoparticles initiate magneto-mechanochemical and thermal effects on cancer cells in response to stationary magnetic and electromagnetic fields. Nevertheless, the target temperature required to cause cancer cell damage and death is close to the heat pain

threshold in soft tissues of the human chest. Combining the magneto-mechanochemical and thermal effects is promising for clinical translation, as the compression force during mammographic examinations, which causes pain in women, greatly exceeds the forces needed to affect tumour cells. Personalised treatment planning involves determining the magnetic nanoparticle clustering patterns and biomechanical properties of the tumour for each patient. Yet previously designed bioengineering devices lacked the ability to personalise the magneto-mechanochemical effects initiated in malignant tumours, thereby limiting progress in translating cancer magnetic nanotheranostics into clinical practice.

This thesis aims to justify and develop designs for biomedical devices with magnetic nanoparticles to initiate antitumor effects and enable radiological visualisation of an experimental malignant tumour.

To achieve the aim, this work addressed the following **tasks**.

1. Survey the research and patent literature on magneto-mechanochemical effects initiated by magnetic nanoparticles under the influence of electromagnetic irradiation, as well as radiological visualisation of malignant tumours.
2. Develop a device design for detecting and studying mechanoluminescence in cancer cells initiated by magnetic nanoparticles and a rotating magnetic field.
3. Develop a breast-mimicking phantom design and analyse texture parameters in acquired radiology images for personalised planning of inductive moderate hyperthermia with a stationary magnetic field and magnetic nanoparticles.
4. Investigate the combined effect of inductive moderate hyperthermia, stationary magnetic field using a magnetic-dipole applicator and magnetic nanoparticles on radiological visualisation, texture parameters of acquired tumour images, redox state and growth kinetics.

Research originality. This research proposes a new experimental design for a mechanoluminescence detection device that analyses liquid samples containing Walker-256 breast carcinosarcoma cells with the medium by using magnetic nanoparticles in response to a rotating magnetic field. The developed breast-mimicking phantom design with MCF-7 human breast adenocarcinoma cells for personalised planning of inductive

moderate hyperthermia combined with a stationary magnetic field and magnetic nanoparticles has enabled radiological visualisation and texture analysis of nanoparticle clustering patterns in acquired images. This work investigates the effects of inductive moderate hyperthermia using a magnetic-dipole applicator in combination with Fe₃O₄-Au magnetic nanoparticles loaded with antitumour drug doxorubicin on radiological visualisation, texture parameters, as well as superoxide radical, ubisemiquinone, nitric oxide levels, and Walker-256 carcinosarcoma growth kinetics. These results contribute to personalising magneto-mechanochemical effects initiated by magnetic nanoparticles under the influence of electromagnetic irradiation for cancer theranostics.

Practical implications. Mechanoluminescence signals measured using the developed device can provide additional quantitative information about the magneto-mechanochemical effect on tumour cells, improving the accuracy of medical diagnosis and treatment. The proposed phantom design can be utilised in inductive moderate hyperthermia planning for breast tumours with magnetic nanoparticles serving both as a marker on X-ray and ultrasound imaging as well as a localiser for electromagnetic irradiation. The results obtained indicate that a combination of iron oxide magnetic nanoparticles, a stationary magnetic field and a magnetic-dipole applicator led to a 17% inhibition of Walker-256 carcinosarcoma growth kinetics in the exponential phase and a 2.7-fold decrease in Young's modulus, as measured by ultrasound elastography, as well as more pronounced necrotic changes, compared to magnetic nanoparticles alone ($p < 0.05$). Furthermore, the combined action of inductive moderate hyperthermia with a magnetic-dipole applicator and doxorubicin-loaded Fe₃O₄-Au magnetic nanoparticles caused a 1.4-fold increase in superoxide radical level, a 2.1-fold increase in ubisemiquinone level, a 1.2-fold decrease in nitric oxide level and a 14% more pronounced inhibitory effect on Walker-256 carcinosarcoma growth kinetics in the terminal phase than conventional doxorubicin ($p < 0.05$).

The developed bioengineering devices with magnetic nanocomposites have been used for nanotheranostic technology in the Laboratory of electron-beam nanotechnology of inorganic materials for medicine at E.O. Paton Electric Welding Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, as well as in the teaching of the courses

“Biophysics” and “Radiation Protection and Dosimetry” for students obtaining the first (bachelor) level of higher education in speciality 163 – Biomedical Engineering and 122 – Computer Science at the Faculty of Biomedical Engineering, Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute.

The main findings of this thesis are reflected in 20 research publications, including 5 research articles indexed in Scopus and Web of Science, 1 research article in a specialised scientific journal in the field of biomedical engineering, 1 research article in a specialised scientific journal in the field of medical sciences, 2 Ukrainian patents, and 11 abstracts from congresses, symposia, and scientific conferences.

Chapter 1 “Literature review” surveys the scientific and patent literature on applications of magnetic nanoparticles for cancer treatment based on the magneto-mechanochemical and thermal effects caused by electromagnetic irradiation as well as techniques in radiological visualisation of malignant tumours.

Chapter 2 “Materials and methods” outlines the design of the studies conducted, as well as the characteristics of the materials used and study objects. It details the proposed designs and utilisation of a device for initiating mechanoluminescence by magnetic nanoparticles and a rotating magnetic field in biological objects, a breast phantom and an employed magnetic-dipole applicator for personalised inductive moderate hyperthermia with magnetic nanoparticles and a stationary magnetic field. This chapter also describes radiological visualisation techniques, including digital breast tomosynthesis, ultrasound elastography, computed tomography and magnetic resonance imaging, and texture analysis methods applied to the acquired images in this work.

Chapter 3 “Detection of mechanoluminescence in cancer cells” compares spontaneous chemiluminescence signals and mechanoluminescence signals initiated by a rotating magnetic field in Walker-256 carcinosarcoma cells with magnetic nanocomposite using the proposed device.

Chapter 4 “Antitumour effect of inductive moderate hyperthermia using stationary magnetic field with magnetic nanoparticles and radiological visualisation of breast phantom” presents image analysis results from digital breast tomosynthesis and ultrasound elastography of the designed phantom. It also includes cell viability tests of

MCF-7 human breast adenocarcinoma cells in response to inductive moderate hyperthermia combined with a stationary magnetic field and magnetic nanoparticles.

Chapter 5 “Antitumour effect of inductive moderate hyperthermia using stationary magnetic field with magnetic nanoparticles and radiological visualisation of Walker-256 carcinosarcoma” provides the results from ultrasound elastography and magnetic resonance imaging analyses. It also compares changes in Walker-256 carcinosarcoma redox state, growth kinetics and morphological features under the influence of inductive moderate hyperthermia using a magnetic-dipole applicator and magnetic nanoparticles.

Key-words: anticancer effect; cancer cells; electromagnetic irradiation; image analysis; inductive moderate hyperthermia; magnetic field; magnetic resonance imaging; malignant tumour; medical image; nanoparticles; texture analysis; ultrasound imaging.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ПОЗНАЧЕНЬ	21
ВСТУП.....	22
РОЗДІЛ 1. АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	29
1.1. Магніто-механохімічний та тепловий ефект у модуляції редокс-стану злоякісних пухлин	31
1.1.1. Редокс-стан злоякісної пухлини	31
1.1.2. Магнітохімічний ефект	32
1.1.3. Магнітомеханічний ефект	35
1.1.4. Магніто-механохімічний ефект	38
1.1.5. Тепловий ефект	39
1.2. Використання механолюмінесценції для дослідження магніто-механохімічного ефекту.....	42
1.3. Експериментальні дослідження магніто-механохімічного ефекту магнітних наночастинок.....	46
1.3.1. Магнітні властивості наночастинок.....	46
1.3.2. Параметри постійного магнітного та електромагнітного полів.....	48
1.4. Магнітна нанотераностика злоякісних пухлин.....	51
1.5. Обмеження та виклики для трансляції у клінічне застосування.....	54
Висновки до розділу 1	59
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	60
2.1. Обґрунтування використаних матеріалів та методів	60
2.2. Магнітні наночастинки та магнітний нанокомпозит	64
2.3. Вимірювання механолюмінесценції	68
2.3.1. Опис конструкції розробленого пристрою для реєстрації механолюмінесценції.....	68
2.3.2. Методика реєстрації механолюмінесценції злоякісних клітин з магнітними наночастинками.....	73

2.4. Індукційна помірна гіпертермія з постійним магнітним полем, магнітними наночастинками та радіологічна візуалізація фантома грудної залози.....	74
2.4.1. Опис конструкції розробленого фантома грудної залози.....	74
2.4.2. Магнітне націлювання магнітних наночастинок.....	78
2.4.3. Електромагнітне опромінення з магнітними наночастинками	79
2.4.4. Клітини MCF-7.....	81
2.4.5. Текстурний аналіз медичних зображень фантома грудної залози.....	82
2.5. Індукційна помірна гіпертермія з постійним магнітним полем і магнітними наночастинками та радіологічна візуалізація експериментальної моделі злоякісної пухлини.....	85
2.5.1. Експериментальні тварини та перещеПЛення пухлинних клітин.....	85
2.5.5. Магнітно-резонансна томографія тварин-пухлиноносіїв	94
2.5.6. Спектроскопія електронного парамагнітного резонансу пухлини	97
2.5.7. Гістологічний аналіз пухлини	98
2.6. Статистична обробка експериментальних даних	98
РОЗДІЛ 3. РЕЄСТРАЦІЯ МЕХАНОЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ЗЛОЯКІСНИХ КЛІТИН	100
Висновки до розділу 3	106
РОЗДІЛ 4. ПРОТИПУХЛИННИЙ ВПЛИВ ІНДУКЦІЙНОЇ ПОМІРНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ З ПОСТІЙНИМ МАГНІТНИМ ПОЛЕМ І МАГНІТНИМИ НАНОЧАСТИНКАМИ ТА РАДІОЛОГІЧНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ ФАНТОМА ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ.....	107
4.1. Аналіз рентгенівських цифрових томосинтетичних зрізів та ультразвукових зображень зони інтересу пухлини фантома	107
4.2. Аналіз температури у зоні інтересу пухлини фантома при індукційній помірній гіпертермії з постійним магнітним полем та магнітними наночастинками	110
4.3. Вплив індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем та магнітними наночастинками на виживаність MCF-7 клітин	111
Висновки до розділу 4.....	114

РОЗДІЛ 5. ПРОТИПУХЛИННИЙ ВПЛИВ ІНДУКЦІЙНОЇ ПОМІРНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ З ПОСТІЙНИМ МАГНІТНИМ ПОЛЕМ І МАГНІТНИМИ НАНОЧАСТИНКАМИ ТА РАДІОЛОГІЧНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ КАРЦИНОСАРКОМИ УОКЕР-256.....	115
5.1. Ультразвукова візуалізація біомеханічних параметрів карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітних наночастинок та постійного магнітного поля	115
5.2. Кінетика росту та морфологічні характеристики карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітних наночастинок та постійного магнітного поля.....	117
5.3. Магнітно-резонансна візуалізація карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітного нанокompозиту та індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем	121
5.4. Кінетика росту карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітного нанокompозиту та індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем.....	124
5.5. ЕПР-спектроскопія карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітного нанокompозиту та індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем.....	126
Висновки до розділу 5.....	130
ВИСНОВКИ	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	133
ДОДАТОК 1	171
ДОДАТОК 2	178
ДОДАТОК 3	179
ДОДАТОК 4	181
ДОДАТОК 5	183
ДОДАТОК 6	185
ДОДАТОК 7	187

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ПОЗНАЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню;
АФН – активні форми азоту;
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;
ДОКС – доксорубіцин;
ЕМП – електромагнітне поле;
ЕПР – електронний парамагнітний резонанс;
ІПГ – індукційна помірна гіпертермія;
КТ – рентгенівська комп’ютерна томографія;
МЛ – механолюмінесценція;
МНК – магнітний нанокompозит;
МНК-ДОКС – магнітний нанокompозит навантажений доксорубіцином;
МНЧ – магнітна наночастинка;
МРТ – магнітно-резонансна томографія;
ПМП – постійне магнітне поле;
РМП – ротаційне магнітне поле;
РЦТ – рентгенівський цифровий томосинтез;
СМНЧ – суперпарамагнітна наночастинка;
УЗД – ультразвукове дослідження;
УЗЕ – ультразвукова еластографія;
ФМНЧ – феромагнітна наночастинка;
ХЛ – хемілюмінесценція;
SAR – питомий коефіцієнт поглинання енергії електромагнітного поля (specific absorption rate).

ВСТУП

Актуальність теми дослідження. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у світі щороку виявляється близько 20 мільйонів нових випадків злоякісних новоутворень, з яких 9,7 мільйонів випадків є летальними [1]. За даними Національного канцер-реєстру України, загальна кількість випадків онкологічного захворювання сягнула понад 106 тисяч за 2022 рік, а частка хворих, що не прожили одного року, з числа вперше виявлених перевищила 23%. Найбільша частка у нозологічній структурі зареєстрованих випадків у жінок припадає на злоякісні новоутворення грудної залози, з якими пов'язано майже 15% усіх смертей від злоякісних новоутворень [2]. Результати попередніх досліджень вказують на вищі показники відповіді пухлини на лікування та виживаності у пацієнтів зі злоякісною пухлиною грудної залози після хіміотерапії у комбінації з регіональною індукційною помірною гіпертермією (ІПГ) ($\leq 42^{\circ}\text{C}$), ніж у тих, хто отримував лише хіміотерапію [3], [4]. Індукційна гіпертермія використовується для лікування відносно невеликих цільових об'ємів, таких як первинна пухлина, група регіонарних лімфатичних вузлів або солітарний віддалений метастаз. Однак обмеження цього підходу все ще залишаються пов'язаними з локальним впливом на пухлину, гетерогенністю, притаманною злоякісним пухлинам, і побічними ефектами підвищення температури у навколишніх тканинах [5], [6], [7].

Використання магнітних наночастинок (МНЧ) у комбінації з ІПГ охоплює широкий спектр застосувань для поєднання діагностики та лікування – тераностики злоякісних новоутворень. МНЧ, доставлені до пухлини під впливом постійних магнітних полів (ПМП), підвищують контрастність медичного зображення завдяки різниці в інтенсивності сигналу при магнітно-резонансній томографії (МРТ), ехогенності й жорсткості при ультразвуковому дослідженні (УЗД), рентгенщільності при рентгенівській візуалізації між зоною інтересу пухлини та навколишніми тканинами, а також таргетно ініціюють протипухлинний вплив на злоякісні клітини за рахунок магніто-механохімічних і теплових ефектів під дією ПМП та електромагнітного поля (ЕМП) [8], [9], [10], [11], [12]. При цьому, цільова

температура ($\sim 42\text{ }^{\circ}\text{C}$), необхідна для протипухлинного впливу при ІПГ з МНЧ, є близькою до значення больового порогу, спричиненого нагріванням м'яких тканин у грудній клітці людини [13]. Дослідження зосереджені на комбінації магніто-механохімічних і теплових ефектів демонструють перспективу для подальшої трансляції у клінічне застосування. Сили, які створюють магнітні наночастинки під дією постійного магнітного поля, є значно меншими за компресійну силу під час мамографії ($> 150\text{ Н}$), що викликає біль у жінок [14], проте цих сил ($0,2\text{--}5000\text{ пН}$) достатньо для впливу на злоякісні клітини [15]. Персоналізоване планування ІПГ з МНЧ для кожного пацієнта вимагає визначення розподілу МНЧ та біомеханічних параметрів пухлини. Водночас відомі біоінженерні засоби достатньо обмежені щодо можливості персоналізації магніто-механохімічних ефектів у злоякісних пухлинах, що призводить до звуження області використання магнітної нанотерапії злоякісних новоутворень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана на кафедрі трансляційної медичної біоінженерії факультету біомедичної інженерії Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» та у Державному некомерційному підприємстві «Національний інститут раку» в рамках наступних науково-дослідних робіт: «Оптимізація консервативного лікування хворих на рак грудної залози HER2/neu - (негативний) групи високого ризику прогресування захворювання» (державний реєстраційний номер: 0120U002186), «Розробити методику протипухлинної терапії первинних злоякісних пухлин кісток, засновану на магнітохімічній технології з використанням наноконструкцій» (державний реєстраційний номер: 0123U100711) та «Покращення результатів консервативного лікування хворих на рак грудної залози з низьким або негативним статусом HER2/neu на основі оптимізації та індивідуалізації методів терапії» (державний реєстраційний номер: 0123U100713) і «Holo-TEM of magnetic nanocomplexes Au-Fe₃O₄-DOXO for a more effective fight against cancer» (20232024 Центральноєвропейського консорціуму дослідницьких інфраструктур CERIC-ERIC). Комітетом з Державних премій України в галузі науки і техніки (Постанова

№ 6 від 04.11.2022) дисертанту було призначено стипендію Кабінету Міністрів України для молодих вчених протягом 2022–2024 рр.

Мета і завдання дослідження. Мета даної дисертаційної роботи – обґрунтувати та розробити біоінженерні засоби з магнітними наночастинками для реалізації протипухлинного впливу і радіологічної візуалізації експериментальної злоякісної пухлини.

Для досягнення поставленої мети було вирішено наступні **завдання**.

1. Проаналізувати наукову та патентну літературу щодо магніто-механохімічних ефектів, ініційованих впливом МНЧ з електромагнітним опроміненням, і радіологічної візуалізації злоякісних пухлин.

2. Розробити дизайн пристрою для реєстрації та дослідити механолюмінесценцію (МЛ) злоякісних клітин, ініційовану впливом МНЧ та ротаційного магнітного поля (РМП).

3. Розробити дизайн тканинноеквівалентного фантома грудної залози, провести його радіологічну візуалізацію та текстурний аналіз отриманих зображень для персоналізованого планування ІПГ з ПМП і МНЧ.

4. Дослідити комбінований вплив індукційної помірної гіпертермії, постійного магнітного поля з застосуванням магнітно-дипольного аплікатора та магнітних наночастинок на радіологічну візуалізацію, текстурні параметри отриманих зображень, редокс-стан і кінетику росту експериментальної моделі злоякісної пухлини.

Об’єкт дослідження – магнітна нанотераностика злоякісних пухлин.

Предмет дослідження – біоінженерні засоби з використанням МНЧ для протипухлинного впливу та медичної радіологічної візуалізації експериментальної злоякісної пухлини.

Методи дослідження – біоінженерні, радіологічні, морфологічні, фізико-технічні, фізико-хімічні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше розроблено пристрій та проведено реєстрацію ініційованої впливом МНЧ і РМП механолюмінесценції злоякісних клітин карциносаркоми грудної залози Уокер-256 у рідкому

середовищі. Уперше розроблено фантом грудної залози зі злоякісними клітинами аденокарциноми грудної залози MCF-7 для персоналізації планування ІПГ з ПМП і МНЧ, проведено його радіологічну візуалізацію із застосуванням текстурного аналізу розподілу кластерів МНЧ на отриманих зображеннях. Уперше досліджено вплив МНЧ на основі оксиду заліза і золота, навантажених протипухлинним препаратом доксорубіцином (ДОКС), у комбінації з магнітно-дипольним аплікатором для ІПГ на радіологічну візуалізацію, текстурні параметри, рівні убісеміхінону, супероксидного радикала, оксиду азоту та кінетику росту карциносаркоми Уокер-256. Отримані результати доповнюють сучасні біоінженерні рішення щодо персоналізації магніто-механохімічного ефекту МНЧ під впливом електромагнітного опромінення при тераностиці злоякісних пухлин.

Практичне значення отриманих результатів. Оцінка МЛ з використанням запропонованого пристрою може слугувати додатковим кількісним параметром магніто-механохімічного ефекту в злоякісних клітинах при магнітній нанотераностиці для покращення точності медичної діагностики й терапії. Запропонована конструкція фантома може бути використана для планування ІПГ злоякісних новоутворень грудної залози, де МНЧ слугують маркером на рентгенівських та УЗД-зображеннях і водночас локалізатором для впливу електромагнітного опромінення. Результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що вплив МНЧ на основі оксиду заліза та ПМП з застосуванням магнітно-дипольним аплікатором призводив до зниження величини модуля Юнга пухлини у 2,7 раза при УЗД-візуалізації, більш виражених некротичних змін та інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 на 17% у експоненціальній фазі, порівняно з впливом МНЧ ($p < 0,05$). Вплив МНЧ на основі оксиду заліза і золота, навантажених протипухлинним препаратом ДОКС, у комбінації з магнітно-дипольним аплікатором для ІПГ ініціював збільшення в 1,6 раза медіани інтенсивності та менше абсолютне значення коефіцієнта асиметрії зони інтересу пухлини при МРТ-візуалізації, підвищення рівнів супероксидного радикала в 1,4 раза, убісеміхінону – у 2,1 раза, зниження рівнів вільного радикала оксиду азоту в 1,2 раза та на 14% більш виражене інгібування кінетики росту

карциносаркоми Уокер-256 у термінальній фазі, ніж самостійна дія офіційного ДОКС ($p < 0,05$).

Розроблені біоінженерні засоби з магнітними нанокompозитами використано для технології нанотераностики в лабораторії електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона Національної академії наук України та у викладанні дисциплін “Біофізика” та “Радіаційна безпека і дозиметрія” для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальностей 163 – Біомедична інженерія та 122 – Комп’ютерні науки на факультеті біомедичної інженерії Національного технічного університету України «КПІ ім. Ігоря Сікорського».

Особистий внесок здобувача. Результати дисертаційної роботи, одержані автором або за його безпосередньої участі. Основний обсяг експериментальних досліджень, обробка та інтерпретація одержаних результатів виконані здобувачем особисто. Дисертант самостійно виконав інформаційний пошук, аналіз літературних даних, визначив сучасний стан проблеми, планування та методичні підходи до радіологічної візуалізації і магніто-механохімічних ефектів, проаналізував отримані медичні зображення, провів статистичний та науковий аналіз отриманих результатів. Вибір напрямку досліджень, постановка мети та задач, планування експериментальної роботи, обговорення й узагальнення отриманих результатів проводилося спільно з науковим керівником д.б.н., проф. Галкіним О.Ю. В окремих обговореннях результатів також брали участь д.б.н., проф. Орел В.Е. (ДНП «Національний інститут раку»), Ph.D., проф. Тселепі М. (Tseleri M.) (Янінський університет, Греція) та Ph.D. Мітреліас Т. (Mitrelas T.) (Cambridge BioMagnetics, Ltd., Кембридж, Сполучене Королівство Великої Британії та Північної Ірландії). Усі розділи дисертаційної роботи написані та оформлені автором особисто, самостійно сформульовано висновки, обґрунтовано теоретичні та практичні положення роботи. У статтях, які написані у співавторстві, вагомий внесок належить дисертанту, немає конфлікту інтересів. Дослідження фізико-хімічних характеристик магнітних наночастинок було

здійснено спільно з к.т.н. Кураповим Ю.А. та к.ф.-м.н. Литвином С.Є. (Інститут електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України), Ph.D., проф. Калкагніле Л. (Calcagnile L.), Ph.D., проф. Манно Д. (Manno D.) та Ph.D., проф. Ріналді Р. (Rinaldi R.) (Center of Applied Physics, Dating and Diagnostics, Салентійський університет, Італія). Аналіз життєздатності клітин проводили спільно з д.б.н., проф. Гарманчук Л.В. (Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини», Київського національного університету імені Тараса Шевченка). Перещеплення пухлинних клітин, налаштування параметрів опромінення та спостереження за лабораторними тваринами було здійснено спільно з к.б.н. Дасюкевич О.Й. та Рихальським О.Ю. (ДНП «Національний інститут раку»). Гістологічний аналіз отриманих тканинних зразків було виконано спільно з д.б.н. Кузнєцовою Г.М. та к.б.н. Дзюбенко Н.В. (Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини», Київського національного університету імені Тараса Шевченка). Аналіз спектрів електронного парамагнітного резонансу отриманих тканинних зразків було проведено спільно з д.б.н. Бурлакою А.П. та к.ф.-м.н. Вірко С.В. (Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України).

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації представлені на наукових конгресах, конференціях та з'їздах: XIV з'їзд онкологів та радіологів України (30 вересня–2 жовтня 2021 р., Київ, Україна); IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (19 травня 2022 р., Харків, Україна); International Union for Physical and Engineering Sciences in Medicine (IUPESM) World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering (12–17 червня 2022 р., Сінгапур, Сінгапур); European Congress of Radiology (13–17 липня 2022 р., Відень, Австрія); XXII International Conference on Mechanics in Medicine and Biology (19–21 вересня 2022 р., Болонський університет, Болонья, Італія); IEEE 41st International Conference on Electronics and Nanotechnology (10–14 жовтня 2022 р., Київ, Україна); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії»,

(15–16 грудня 2022 р., Київ, Україна); International Conference on Biotechnology and Bioengineering (28 вересня–1 жовтня 2023 р.); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії», (13–14 грудня 2023 р., Київ, Україна); Міжнародна науково-технічна конференція «Сучасні технології біомедичної інженерії» (8–10 травня 2024 р., Одеса, Україна); XI Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку, новітні технології» (25–27 вересня 2024 р., Київ, Україна).

Публікація матеріалів. Основні положення дисертаційної роботи викладено в 20 наукових працях, у тому числі у 5 статтях, що включенні до міжнародної наукометричної бази даних Scopus та Web of Science, в 1 статті у науковому фаховому виданні України у галузі біомедичної інженерії, в 1 статті у науковому фаховому виданні України у галузі медичних наук, у 2 патентах України та в 11 тезах конгресів, з'їздів, наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Зміст роботи викладено на 189 сторінках. Дисертація складається зі вступу, аналітичного огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, трьох розділів власних експериментальних досліджень і їх обговорення, висновків, списку використаних джерел з 337 посилань та 8 додатків. Робота містить 20 таблиць і 28 рисунків.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Розвиток злоякісних новоутворень пов'язаний з порушенням регуляції сигнальних шляхів, які беруть участь у процесах росту та поділу клітин [16]. Мікрооточення пухлини складається з сукупності фібробластів, інфільтруючих імунних клітин, ендотеліальних клітин і позаклітинного матриксу, що відіграє важливу роль у взаємодії злоякісних клітин з організмом пухлиноносія, сприяючи прогресуванню процесу через зміну механо- і редокс-чутливих сигнальних шляхів [17]. Магнітні нанотехнології мають низку переваг у реалізації дистанційно керованої протипухлинної дії за рахунок комбінації нетеплового (магніто-механохімічний ефект) та теплового (помірна гіпертермія) впливу на пухлину та її мікрооточення під дією ПМП та ЕМП [18], [19]. Стохастичні коливання сигнальних шляхів у клітинах часто виявляються настільки ж вагомими, наскільки й генетичні фактори або фактори навколишнього середовища в багатоетапному процесі карциногенезу. Математичні підходи, засновані на нелінійній динаміці (теорії хаосу), фрактальному й автокореляційному аналізі, широко використовуються в системній біології для опису поведінки пухлин, де злоякісну пухлину розглядають як складну адаптивну систему [20]. Атипові клітини та хаотична судинна мережа злоякісних пухлин відображають зміни детермінованого хаосу [21], [22]. Поняття детермінованого хаосу було введено дослідниками для аналізу постійної дії флуктуацій на пухлинні клітини на різних рівнях організації організму людини.

Розробка біоінженерних засобів для медичних цілей потребує розуміння різних рівнів організації, оскільки структури вищого порядку мають більшу складність, аніж структури нижчого порядку. Елементи з низького рівня організації спричиняють хаотичну поведінку, якщо розглядати їх з позицій вищого рівня. Отже, найбільш поширені атоми в біологічних об'єктах, такі як вуглець, водень, азот, кисень, фосфор і сірка, розглядають як джерело хаотичної динаміки порівняно з макромолекулярними структурами. Цікаво, що стохастичні явища на вищих рівнях можуть змінювати поведінку елементів нижчого порядку [23]. Дослідження

нелінійних динамічних систем є значущими для розуміння гетерогенності злоякісних пухлин. Злоякісні пухлини демонструють структурну та метаболічну гетерогенність на всіх рівнях організації живого організму [24]. Гетерогенність пухлин є однією з ключових особливостей, що ускладнюють діагностику та лікування злоякісних новоутворень [25]. Наприклад, просторова і часова гетерогенність розподілу кисню, гіпоксії та аденозинтрифосфату виникають через більш хаотичну структуру судинної мережі в пухлині та її мікрооточенні, ніж у нормальних тканинах [26]. А. Сент-Дьйорді (A. Szent-Györgyi) запропонував один з перших підходів, що пов'язують зміни у переносі електронів з ростом пухлини [27].

Для реалізації магнітної нанотераностики злоякісних пухлин – підходу, що поєднує діагностику та лікування з допомогою єдиної наноплатформи, – МНЧ забезпечують додаткову кількісну інформацію при радіологічній візуалізації, більш таргетну (цільову) доставку та посилення протипухлинного ефекту хіміотерапевтичних агентів у відповідь на вплив ПМП та ЕМП. До прикладу, магнітні наноконізати (МНК), навантажені протипухлинними препаратами, такими як ДОКС і паклітаксел, уможливають кращу візуалізацію пухлини й водночас потенціюють їхню дію [28], [29], [30]. Розуміння ролі МНЧ та МНК у взаємодії організму з пухлиною має значення для зниження їхньої токсичної дії на нормальні тканини. Однак досі існує ряд невирішених питань у медичній трансляції магніто-механохімічних ефектів МНЧ для персоналізованої тераностики злоякісних пухлин. Метою цього розділу є аналіз ролі МНЧ і МНК під впливом ПМП та ЕМП у модуляції редокс-стану пухлини на основі магніто-механохімічних і теплових ефектів.

1.1. Магніто-механохімічний та тепловий ефект у модуляції редокс-стану злоякісних пухлин

1.1.1. Редокс-стан злоякісної пухлини

Зміни в дихальному ланцюзі мітохондрій злоякісних клітин стали широко відомими після досліджень О. Варбурга (O. Warburg), який встановив, що біоенергетичні процеси у пухлинах значною мірою базуються на анаеробному гліколізі. Гетерогенність ділянок гіпоксії у пухлині вважається серйозною перешкодою для ефективної доставки та протипухлинної дії ліків. Фактори індуковані гіпоксією (HIF-1, HIF-2) регулюють процеси росту злоякісних пухлин та ангіогенезу в умовах низького вмісту кисню. З огляду на це, підвищення метаболізму кисню в пухлині визначено як одну зі стратегій пригнічення проліферації злоякісних клітин [31], [32].

Часткове відновлення кисню в мітохондріях прийнято вважати основним джерелом сполук, широко відомих як активні форми кисню (АФК), що мають високу реакційну здатність завдяки наявності неспарених електронів у зовнішній електронній оболонці та, як наслідок, парамагнітні властивості. За фізіологічних умов, клітинний метаболізм призводить до ініціації супероксидного ($O_2^{\cdot-}$) та гідроксильного ($\cdot OH$) радикалів, котрі утворюються білковими комплексами I та III у дихальному ланцюзі [33]. Іншим джерелом АФК слугують порушення метаболізму заліза. Накопичення лабільного заліза ініціює перекисне окиснення ліпідів і викликає запрограмовану форму клітинної смерті – фероптоз [34]. АФК відіграють складну роль у функціонуванні клітин: з одного боку, регулюють життєздатність клітин з допомогою редокс-чутливих сигналів шляхів (ERK 1/2 і NF- κ B), а з іншого – призводять до пошкодження ліпідів, білків і нуклеїнових кислот та окисного стресу [35], [36]. Нелінійна динаміка коливання рівнів АФК виступає елементом варіабельності в біоенергетичних процесах мітохондрій [37]. Для підтримки окисно-відновного гомеостазу клітини мають розвинені ферментативні (супероксиддисмутаза, каталаза) та неферментативні (глутатіон, аскорбінова кислота, токофероли, каротиноїди) антиоксидантні системи, що

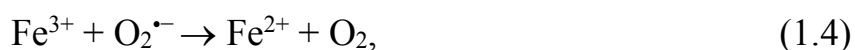
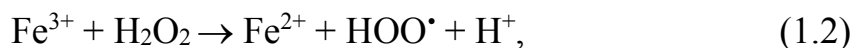
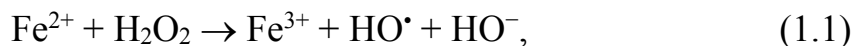
забезпечують захист від пошкодження АФК. Оскільки злоякісні пухлини ростуть у більш гіпоксичному середовищі, ніж нормальні тканини, то пухлинні клітини також мають більш виражену потребу в антиоксидантах. Підвищений рівень глутатіону попередньо було асоційовано з резистентністю та прогресуванням пухлини [38].

Застосування зовнішніх ЕМП зсуває рівновагу між утворенням АФК та антиоксидантною здатністю. У роботі [39] було виявлено, що низькочастотні ЕМП впливали на передачу сигналів і транскрипцію генів. МНК, навантажені хіміотерапевтичними агентами, під впливом ЕМП ініціювали протипухлинні ефекти, засновані на механізмі радикальних пар (radical-pair mechanism). Параметри ЕМП змінювали кінетику утворення АФК: пухлинні клітини зазнавали апоптозу за помірної концентрації АФК, тоді як вища концентрація викликала некроз. Хоча модуляція рівнів АФК і антиоксидантів з допомогою ЕМП залишається складним завданням, застосування нелінійної динаміки злоякісних пухлин і розуміння механізмів вільнорадикальних реакцій представляє більш персоналізований підхід до нанотерапії раку.

1.1.2. Магнітохімічний ефект

Згідно з магнітохімічною теорією, запропонованою Г. Льюїсом (G. Lewis), обмін електронами між атомами і молекулами пов'язаний з їхніми магнітними властивостями [40]. Магнітні властивості двох реагуючих речовин визначають тип хімічних зв'язків, що утворюються між ними [41]. Властивості МНЧ, таких як Fe_3O_4 , Fe_2O_3 , Co_3O_4 , Cr_2O_3 , використовують для вивчення біологічних процесів, пов'язаних зі злоякісними пухлинами. Наприклад, МНЧ магнетиту (Fe_3O_4) складаються з іонів Fe^{2+} і Fe^{3+} з чотирма і п'ятьма неспареними електронами відповідно. Крім того, між іонами заліза з різним ступенем окиснення в одній МНЧ, а також у кількох МНЧ, відбуваються процеси переносу електронів [42]. МНЧ каталізують утворення АФК у реакціях Фентона та Габера – Вайса у біологічному середовищі (**реакції 1.1 – 1.4**) [43], [44], [45], [46]. Згідно з роботою [47], реакції окиснення вуглеводнів, таких як поліненасичені кислоти та ліпіди, молекулярним

киснем відбувались як послідовність вільнорадикальних реакцій у три стадії (ініціація, пропagaція і термінація) з магніточутливими реакціями рекомбінації радикальних пар $[R^{\bullet} \cdot R]$ і $[R^{\bullet} \cdot RO_2^{\bullet}]$ (реакції 1.5 та 1.6).



де H_2O_2 – пероксид водню; HO^{\bullet} – гідроксильний радикал; HO^{-} – гідроксид-іон; HOO^{\bullet} – гідропероксидний радикал; $O_2^{\bullet-}$ – супероксидний радикал.



де R^{\bullet} – радикал, утворений від вуглеводню; RO_2^{\bullet} – пероксидний радикал.

Зовнішні ПМП та ЕМП дозволяли дистанційно змінювати кінетику окисно-відновних реакцій за участю МНЧ шляхом регуляції спін-залежного переносу електронів [48], [49]. Крім того, застосування градієнтних магнітних полів сприяло переміщенню через мембрану речовин, що містили неспарені електрони на зовнішній оболонці, таких як вільні радикали та іони [50]. Під комбінованим впливом ПМП та ЕМП ініціювалися процеси транспорту електронів від МНЧ до молекул терапевтичних агентів, розташованих на її поверхні, а також до навколишніх метаболітів у клітинах. Тоді як ПМП призводило до розщеплення енергетичних рівнів електронів пропорційно напруженості поля згідно з ефектом Зеемана (Zeeman effect), ЕМП забезпечувало енергію, необхідну для переходу електронів з одного енергетичного рівня на інший. За відсутності ЕМП перехід з триплетного спінового стану радикальної пари в синглетний стан був заборонений, що визначало хімічну реакційну здатність проміжних продуктів [51]. ПМП та ЕМП змінювали електронний транспорт між МНЧ Fe_3O_4 і протипухлинним препаратом,

нанесеним на її поверхню, шляхом спінового переходу, що призводило до утворення АФК. АФК у свою чергу ініціювали перекисне окиснення ліпідів на мембранах, апоптоз, некроз і фероптоз пухлинних клітин через сигнальні шляхи ERK1/2 та NF- κ B (рис. 1.1). Параметри електромагнітного опромінення, такі як напруженість магнітного поля, однорідність, напрямок, частота і тривалість впливу, були налаштовані для модуляції рекомбінації АФК, що продукувалися МНК у злоякісних клітинах [52].

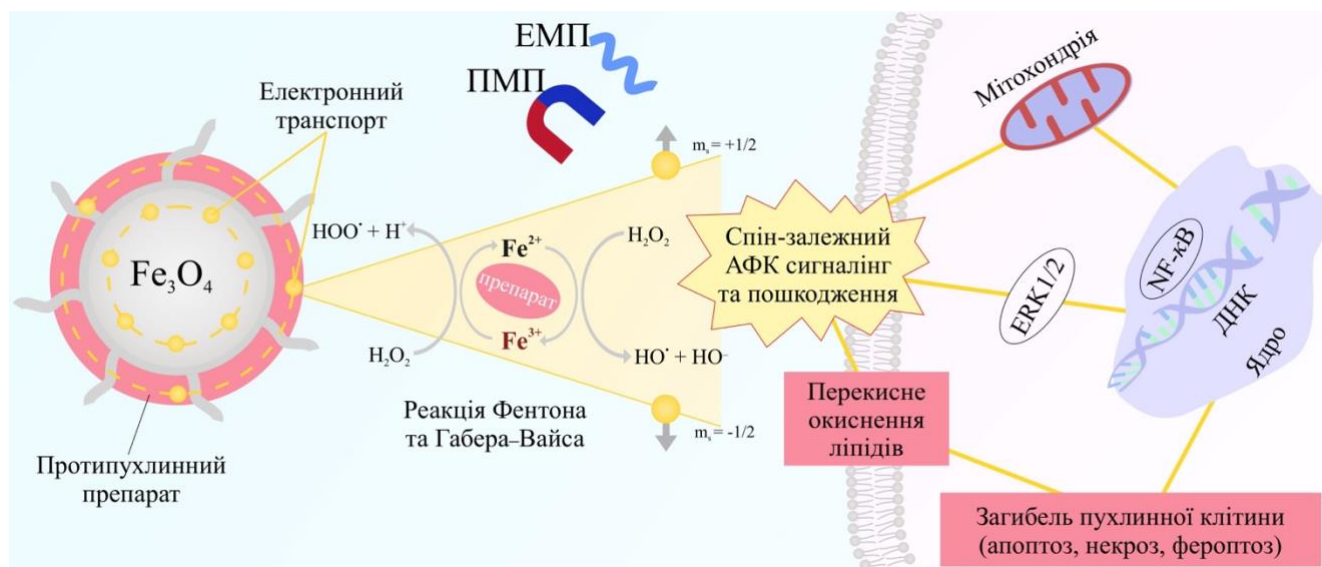


Рис. 1.1. Магнітохімічний ефект МНК, навантаженого протипухлинним препаратом, під впливом ПМП та ЕМП на продукцію АФК у злоякісних клітинах.

Отже, один із механізмів регуляції окисно-відновних процесів у пухлинних клітинах ґрунтується на процесах переносу електронів між МНК, навантаженими протипухлинними препаратами, злоякісними пухлинами та їхнім мікрооточенням, на що може впливати і магнітохімічний ефект.

1.1.3. Магнітомеханічний ефект

У солідних пухлинах існують різні типи контактів між сусідніми клітинами, які передають механічні сили від однієї ділянки пухлини до іншої. Сили, що генеруються в цитоскелеті та позаклітинному матриксі, поєднуються через адгезивні комплекси (кадгерини та інтегрини) на клітинних мембранах. Постійні зміни механічної напруги, яку пухлина та мікрооточення чинять одна на одне, виступають рушійним фактором розвитку, росту та метастазування пухлини [53]. Сигналінг за участі АФК – також частина відповіді клітин на механічний стрес. Зокрема, мутація протоонкогену KRas змінювала механохімічну трансдукцію у клітинах злоякісної пухлини грудної залози, що включало продукцію АФК нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат оксидазою 2 [54].

На додаток до дистанційної доставки, ПМП та ЕМП створювали магнітну силу, що діяла на МНК у пухлині. Хімічні зв'язки між біологічними макромолекулами, наприклад, у доменах рецепторів, ферментів або іонних каналів, змінювались, забезпечуючи при цьому транспорт електронів під впливом механічного розтягування. Останнє пояснювало підвищене утворення АФК, яке зазвичай спостерігалось у пухлинних клітинах після механохімічної активації [55] (**рис. 1.2, А**). МНК Fe-Au під впливом ЕМП ініціювали сигнальний шлях ERK1/2 у клітинах MCF7 через активацію рецептора HER3 при силі величиною 4–12 пН [18] (**рис. 1.2, Б**). Аналогічно, МНК під впливом ПМП та ЕМП створювали магнітну силу та ініціювали утворення АФК для активації неселективних іонних каналів групи TRP [56] (**рис. 1.2, В**).

Наприклад, вплив МНЧ і постійного магніту, що створював магнітну силу величиною 3 пН на мезенхімальні стовбурові клітини використовували для стимуляції інтегринів та активації ВК-каналів [57]. Прикладання слабших сил ($\sim 10^{-5}$ пН) були достатніми, щоб ініціювати кластеризацію FcεRI рецепторів до імуноглобуліну Е на тучних клітинах і активувати механочутливий сигнал для підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, при чому зміни концентрації внутрішньоклітинного кальцію корелювали з силою, тривалістю та частотою впливу [58].

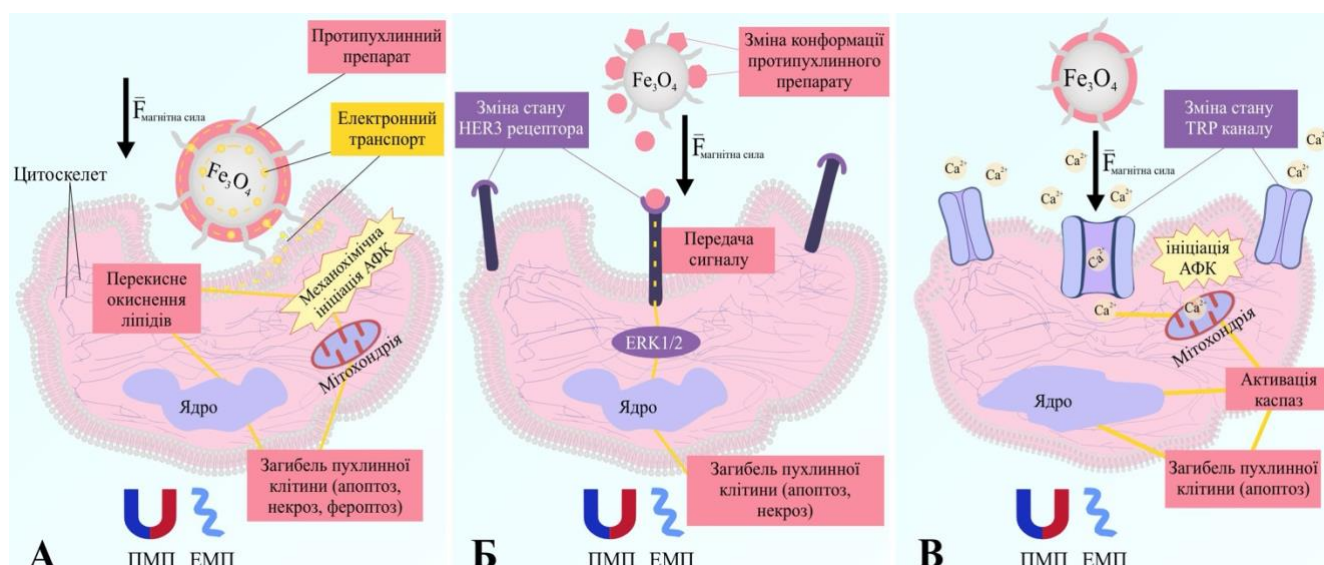


Рис. 1.2. Магнітомеханічний ефект МНК, навантаженого протипухлинним препаратом, під впливом ПМП та ЕМП на продукцію АФК у злоякісних клітинах. Меxанохімічна взаємодія між МНК і клітинними мембранами призводила до утворення АФК, які викликали апоптоз, некроз і фероптоз (А). Магнітна сила, опосередкована МНК, ініціювала зміни в мембранних рецепторах і протипухлинних препаратах, що призводило до контрольованого вивільнення останніх з МНК (Б) та зміни стану іонних каналів (В).

У **табл. 1.1** наведено типові значення величин сил ініційованих ПМП і МНЧ, які були необхідними для зміни стану іонних каналів, взаємодії між білками та ліпідами, лігандом і рецептором, антигеном та антитілом, зміни стану конформації білка, мембранного рецептору, розриву зв'язку між трансмембранним білком і мембраною [15]. Магнітомеханічні ефекти залежали від фізико-хімічних властивостей МНК (розмір, форма, поверхневий заряд, магнітний момент насичення, площа петлі гістерезису та коерцитивність), параметрів прикладених ПМП та ЕМП [8]. Варто зауважити, що виходячи з вищенаведеного, це стимулювало нашу подальшу розробку та використання тканинноквівалентних фантомів зі злоякісними клітинами для персоналізованого планування впливу МНЧ і електромагнітного опромінення.

Типові значення прикладених сил, необхідних для ініціації процесів у клітинах

Процес	Величина сили, пН
Зміна стану іонного каналу	0,2–10
Взаємодія між білками	1–10
Розрив зв'язку між трансмембранним білком та мембраною	30–50
Взаємодія між білком та ліпідом	50–100
Зміна конформації білка	20–100
Зміна стану мембранного рецептора	10–50
Взаємодія між лігандом та рецептором	~ 1000
Взаємодія між антигеном та антитілом	10–100
Розрив ковалентного зв'язку	1000–5000

Для використання магнітомеханічних ефектів МНК у модуляції редокс-стану пухлини, необхідно враховувати різницю між дією ПМП та ЕМП на МНК. МНК як основні акцептори передають магнітну силу, створену ПМП, та коливаються у відповідь на збудження ЕМП і у такий спосіб ініціюють механічний вплив на клітинні структури. На відміну від ЕМП з частотами ≥ 100 кГц, взаємодія між ЕМП з нижчою частотою і МНК у клітинах не була пов'язана з термічним пошкодженням [59]. Магнітна сила, що виникала під дією РМП та імпульсних низькочастотних магнітних полів, також призводила до порушення цілісності мембран [60], [61]. У ранній роботі [62] було досліджено можливість модуляції параметрами ЕМП утворення супероксидного радикала під впливом МНК, функціоналізованого аргініл-гліцил-аспарагіновим трипептидом. Транспорт АФК з лізосом у цитозоль запускав процеси апоптозу в експериментальній моделі злоякісної пухлини MDA-MB-3 у відповідь на ПМП та ЕМП.

1.1.4. Магніто-механохімічний ефект

Хоча магнітохімічні та магнітомеханічні ефекти у вищенаведених підрозділах були представлені окремо, насправді вони пов'язані між собою і призводять до утворення АФК одночасно. Магніто-механохімічний ефект розглядають як процес трансформації впливу магнітної сили, що діє на МНЧ, у біохімічні сигнальні шляхи у пухлині та її мікрооточенні. Це призводить до формування в пухлині ділянок з різними біомеханічними та біохімічними властивостями та зміни механохімічної гетерогенності [63]. У цілому, магніто-механохімічний ефект являє собою інтеграцію магнітохімічних і магнітомеханічних механізмів, які ініціюються МНК під впливом ПМП та ЕМП, що дозволяє досягти глибшого розуміння дії на клітини [8], [19], [64], [65], [66], [67], [68], [69]. Разом з цим, доцільно розглядати зміни кластеризації, симетрії фосфоліпідних мембран та їхньої електричної поляризації, магнітомеханічних і теплових ефектів, ініційованих МНЧ під впливом ПМП та ЕМП, у злоякісних клітинах [70], [71], [72], [73]. Ці ефекти базуються на нелінійній динаміці злоякісних пухлин та процесах транспорту електронів для модуляції АФК. Властивості МНК і параметри застосованих ПМП та ЕМП персоналізовано обирають для пацієнта в процесі синтезу та лікування, перемикаючи АФК-залежний сигналінг від ініціації пухлинного росту до інгібування (**рис. 1.3**).



Рис. 1.3. Магніто-механохімічний ефект у модуляції редокс-стану пухлини на основі магнітохімічних та магнітомеханічних ефектів, що ініціювалися МНЧ під впливом ПМП та ЕМП.

1.1.5. Тепловий ефект

ІПГ – один із методів лікування злоякісних пухлин, заснований на продукції тепла під впливом ЕМП у радіочастотному діапазоні, що застосовують у комбінації з хіміотерапією та променевою терапією у неоад'ювантному та ад'ювантному режимі для первинних пухлин, групи регіонарних лімфатичних вузлів або солітарного метастазу. Варто зазначити, що саме режим помірного нагріву ($\leq 42^\circ\text{C}$) при індукційній гіпертермії дозволяв попередити виникнення побічних ефектів,

пов'язаних з непереносимістю тепла у пацієнтів і термо- та хіміорезистентністю пухлин при вищій температурі [74]. Вагомий вклад у трансляцію ІПГ у клінічну практику протягом 1988–2003 рр. внесла українська школа, започаткована випускником НТУУ «КПІ імені Ігоря Сікорського» Ю. Р. Мединцем на базі ДНП «Національний інститут раку». У більшості випадків лікування методом ІПГ базувалося на збільшенні вихідної потужності випромінювання до 1500 Вт (частота ЕМП 27,12 МГц), доки температура всередині пухлини не досягала достатньої ($\sim 42^\circ\text{C}$) для пошкодження пухлинних клітин. Однак обмеження цього підходу полягали у притаманній злоякісним пухлинам гетерогенності та значному підвищенні температури навколишніх тканин [75].

Деякі з вищезазначених проблем можливо подолати, використовуючи МНЧ для генерації тепла під впливом ЕМП [76]. ІПГ з МНЧ мала перевагу у більш локальному нагріві, коли МНЧ дистанційно спрямовувалися до пухлини зовнішнім ПМП, що проникало в організм людини з мінімальним ослабленням [77]. Більш практичним було керування просторовим розташуванням МНЧ під впливом неоднорідного ПМП завдяки його здатності організовувати їх у кластерні структури [78], які краще відповідали архітектоніці пухлини, ніж однорідні поля.

При прикладанні ЕМП магнітні моменти МНЧ орієнтувалися за полем, у такому разі обертання МНЧ у середовищі (броунівська релаксація, Brownian relaxation) та обертання магнітних моментів усередині МНЧ (неєлівська релаксація, Néel relaxation) призводили до розсіювання енергії. Розсіювання енергії (P_s) МНЧ під впливом ПМП та ЕМП формалізовано у **формулі 1.7** відповідно до роботи [79].

$$P_s = \pi\mu_0\chi_0 \left(\frac{H_{AC}}{\sqrt{H_{AC}^2 + H_{DC}^2}} \cdot H_{AC} \right)^2 f \frac{2\pi f\tau}{1 + (2\pi f\tau)^2}, \quad (1.7)$$

де μ_0 – магнітна проникність вільного простору; χ_0 – рівноважна магнітна сприйнятливість; H_{AC} – амплітуда ЕМП; f – частота ЕМП; H_{DC} – магнітна індукція ПМП; τ – ефективний час релаксації, який визначається за виразом $1/\tau = 1/\tau_N + 1/\tau_B$ (τ_N – час неєлівської релаксації, τ_B – час броунівської релаксації).

ЕМП індукувало вихрові струми в МНЧ на основі оксидів металів доставлених до ділянки пухлини, що також сприяло нагріву [80]. Припускаючи, що МНЧ мають сферичну форму, застосуємо рівняння Смайта для індуктивного нагріву сфери. Виразивши число сфер (число МНЧ) як $n = 3\pi/4\varphi R^3$, де φ – об’ємна частка МНЧ у середовищі, отримуємо вираз для розсіювання енергії (P) унаслідок індукційного нагріву на одиницю об’єму (**формула 1.8**) [81], [82].

$$P = \frac{9\sigma(\pi\mu_r\mu_0fRB)^2}{4\varphi \cdot (2\mu_r^2\mu_0^2x + 4\mu_r\mu_0^2x^2 + 4\mu_0^2x^3)}, \quad (1.8)$$

де σ – електрична провідність МНЧ; R – радіус МНЧ; μ_r – відносна магнітна проникність МНЧ у синусоїдному ЕМП $\mathbf{H} = \mathbf{B}/\mu_0$; μ_0 – магнітна проникність вільного простору; $x = \sigma/R$; φ – об’ємна частка МНЧ у середовищі.

Поглинання МНЧ енергії ЕМП в кілогерцовому (кГц) діапазоні часто використовувалося для негайного термічного і механічного руйнування цілісності злоякісних клітин [12], [15], тоді як комбінований вплив ЕМП у мегагерцовому (МГц) діапазоні та ПМП з магнітною індукцією величиною в межах мілітесла (мТл) дозволив модулювати генерацію АФК. ІПГ з МНЧ збільшувала швидкість перебігу окисно-відновних реакцій, запобігаючи розкладанню пероксиду водню на кисень і воду при вищих температурах [83]. У роботі [84] на експериментальній моделі злоякісної пухлини грудної залози 4T1, ІПГ з використанням МНЧ за температури 42 °С призводила до більш вираженого терапевтичного ефекту за рахунок ініціації АФК та зменшення експресії білка теплового шоку Hsp-70, водночас попереджуючи побічні ефекти, пов’язані з термічними ушкодженнями оточуючих тканин.

1.2. Використання механолюмінесценції для дослідження магніто-механохімічного ефекту

МЛ — це явище, яке характеризується випромінюванням світла біологічними об'єктами у відповідь на механічне подразнення, таке як руйнування, тертя, стиснення, шліфування та розтягування. До збірного поняття «механолюмінесценція» відносять триболюмінесценцію, п'єзолюмінесценцію, деформаційну люмінесценцію та люмінесценцію активовану механічною напругою. Оскільки перший корінь «механ» у цілому вказує на різні механічні впливи, наприклад деформацію, п'єзо, трибо, напругу, фракто, пластику, еластичність, різання, розколювання, шліфування, тертя, стиснення та дроблення, то термін «механолюмінесценція» останніми роками прийнято вважати більш загально вживаним у науковій літературі, що безпосередньо вказує на необхідність міждисциплінарного підходу до вивчення цього явища на перетині між люмінесценцією та біомеханікою, забезпечуючи потенційне застосування в нанотехнологіях для біологічних систем [85], [86].

МЛ ініціюється внаслідок фізичних процесів під час деформації біополімерів і через явища контакту, такі як трибоелектрика, трибохімічні реакції та триботермічна генерація, що виникають під час зіткнення або розділення двох різнорідних речовин. Існує три основних типи напружень, що призводять до генерації МЛ: пружна деформація, пластична деформація та руйнування. Для з'ясування механізмів ініціації МЛ з використанням МНЧ у біологічних середовищах, окремо проаналізуємо кожен із цих типів МЛ нижче [87].

Пружна генерація МЛ — це випромінювання світла, що виникає, коли біоматеріали перебувають у пружному стані. Після зняття напруження біоматеріал повертається до початкового ненапруженого стану. Пружна генерація МЛ привертає увагу дослідників, оскільки біоматеріали можуть випромінювати світло декілька разів, повертаючись до незбудженого стану після кожного циклу дослідження.

Електричне поле (E), яке виникає під час дії пружної деформації визначається формулою 1.9 [88].

$$E = \gamma/\varepsilon_0, \quad (1.9)$$

де γ – щільність п'єзоелектричного заряду, що утворюється під тиском; ε_0 – діелектрична проникність.

Пластична генерація МЛ – це випромінювання світла, що виникає внаслідок пластичної деформації, коли два біоматеріали контактують один з одним, але контакт не викликає їхнього руйнування. Біоматеріали у пластичному стані випромінюють світло, коли вони напружені поза межами своїх еластичних областей і пластично деформуються. При цьому відбувається трибоелектризація, і два біоматеріали, що знаходяться у тісному контакті один з одним, стають електрично зарядженими. МЛ виникає і як результат трибоелектризації, якщо два матеріали розділені, то результуюче розділення заряду ініціює випромінювання світла. **Формула 1.10** пов'язує інтенсивність МЛ (I_{ML}) з ефективністю випромінюваної електрон-діркової комбінації (η) і кількістю електронів (n_d) у дислокаційній зоні в будь-який момент часу (t) [88].

$$I_{ML} = \eta\beta n_d = \frac{\eta P_0^m m \xi p_f r_f n_f}{K^m b \lambda (\xi - \phi)} [\exp(-\phi t) - \exp(-\xi t)], \quad (1.10)$$

де η – ефективність МЛ, пов'язана з рухом носіїв; $\beta = 1/\tau_d$, τ_d – час життя електронів у дислокаційній зоні; n_d – кількість електронів у дислокаційній зоні; P_0^m – кінцеве значення тиску; $m = 1/n$, n – показник процесу деформаційного зміцнення механічним напруженням біоматеріалу; $\xi = 1/\tau_r$, τ_r – часова константа підвищення тиску; K^m – коефіцієнт міцності; p_f – ймовірність захоплення F-центрами електронів, r_f – радіус взаємодії між рухомими дислокаціями і F-центрами; n_f – густина F-центрів у МНЧ; $\phi = 1/\tau_p$, τ_p – час існування дислокацій; b – вектор Бюргерса; λ – середній вільний шлях рухомої дислокації.

Генерація МЛ унаслідок руйнування біополімерів виникає при порушенні їхньої структури. У такому випадку, зарядженими стають поверхні саме в місці руйнування. Дві поверхні розпадаються на протилежно заряджені частини. Результируючий рух електронів для перекриття щілини в точці розлому ініціює випромінювання світла. Інтенсивність МЛ (I_{ML}), що генерується внаслідок руйнування біополімера описується **формулою 1.11** [88].

$$I_{ML} = 2(\eta_1\alpha_1 + \eta_2\alpha_2)\gamma w \nu t, \quad (1.11)$$

де γ – щільність заряду новостворених поверхонь внаслідок руйнування; α_1 та α_2 – константи швидкості релаксації зарядів на новостворених поверхнях; η_1 – ефективність МЛ, пов'язана з рухом носіїв, створених діелектричним пробоем біополімерів; η_2 – ефективність МЛ, пов'язана з рухом електронів та іонів, що утворились діелектричним пробоем проміжних біологічних рідин; w – ширина біополімеру, ν – швидкість поширення розлому; t – час.

Фотофізичні параметри МЛ біополімерів проявляли сильний кореляційний зв'язок з їхньою молекулярною конфігурацією та міжмолекулярним станом [89]. Крім того, МЛ біологічних об'єктів також була ініційована хімічними вільнорадикальними реакціями у результаті механічного стресу, що опосередковано генерували випромінювання фотонів. Збуджені стани, які виникали при механічному стресі, підпорядковувалися законам трибоіндукованої електро- та хемілюмінесценції. З позицій вільнорадикальних ланцюгових реакцій, світлове випромінювання (I_{ML}) у розглянутих процесах обумовлено рекомбінацією пероксидних вільних радикалів (**формула 1.12**) [90], [91], [92].

$$I_{ML} = \omega \eta_e \eta_r, \quad (1.12)$$

де ω – швидкість реакції диспропорціонування пероксидних вільних радикалів; η_e – вихід збудження; η_r – вихід випромінювання.

Навіть за відсутності механічного збудження біологічні об'єкти та неорганічні матеріали є джерелом спонтанної надслабкої хемілюмінесценції (ХЛ) – процесу випромінювання світла в результаті хімічних реакцій [93]. Проте основні труднощі полягають у широкій варіабельності сигналів ХЛ, що реєстрували з тканин організму, та обладнання для вимірювання люмінесценції *in vivo* [94].

Для аналізу МЛ у твердих тілах використовували спеціально розроблене експериментальне обладнання [95]. Для реєстрації МЛ у біологічних об'єктах було запропоновано прилади та випущено спеціальну партію апаратури на базі експериментального виробництва ДНП «Національний інститут раку» [96], [97], [98]. Застосування розробленого обладнання дозволило вивчати МЛ цільної крові та її компонентів, а також пухлинних клітин, отриманих від експериментальної пухлинної моделі та онкологічних пацієнтів. За отриманими результатами було визначено кореляцію між світловим випромінюванням і величиною поверхневого заряду лімфоцитів крові. Крім того, МЛ крові онкологічних пацієнтів характеризувалася збільшенням хаотичності зареєстрованих сигналів. Останнє спостереження викликає окремий інтерес як метод діагностики процесів метастазування в онкологічних пацієнтів. Загалом ці ранні результати засвідчили різницю у сигналах МЛ між нормальними і злоякісними клітинами внаслідок механохімічної гетерогенності, яка пов'язана з генетичною нестабільністю у процесі онкогенезу [69], [99].

Дослідження МЛ використовували, зокрема, для вивчення впливу наноматеріалів і наночастинок [100], [101], [102], що було обумовлено, розвитком, особливо, впродовж останнього десятиліття, магніто-механохімічних ефектів у нанотераностиці з використанням МНЧ, які під впливом магнітного поля ініціювали нанорозмірну деформацію молекулярних біологічних структур. Даний метод засновано на механочутливості тканин, клітин, органел, біополімерів до прикладених механічних сил та індукованої деформації просторової структури [103]. Процеси конверсії механічних подразників у біохімічні сигнали у клітинах називають механотрансдукцією [104]. Використання механотрансдукції відкриває

перспективи у розробці нових методів діагностики та лікування злоякісних новоутворень [8], [105].

Пристрої для дослідження зазвичай складалися з трьох основних компонентів: 1) механоелектричного виконавчого механізму; 2) люмінесцентного детектора; 3) системи збору даних [106]. Відомі апарати достатньо обмежені у можливості проведення реєстрації МЛ біологічних об'єктів у рідкому стані під комбінованим магнітомеханічним впливом щодо контрольних вимірів спонтанної ХЛ досліджуваних зразків. Це призводить до звуження області застосування існуючих пристроїв для задач фармації, біохімії й медицини та зумовлює необхідність їхньої модернізації.

З огляду на вищезазначене, виникає потреба у розробці технічного рішення для дослідження МЛ, що дозволяє використовувати більш широкий спектр аналізів і більш повне розуміння взаємозв'язку прикладених магнітних і механічних сил МНЧ на злоякісні клітини.

1.3. Експериментальні дослідження магніто-механохімічного ефекту магнітних наночастинок

1.3.1. Магнітні властивості наночастинок

Магнітохімічні ефекти та окисно-відновні реакції між іонами перехідних металів з різними ступенями окиснення зумовлювали їхню важливість як кофакторів ферментів у клітинах [107]. З одного боку, розвиток і ріст злоякісних пухлин потребував заліза і часто демонстрував підвищену експресію залізорегуляторних білків, таких як рецептори до трансферину (TfR1) і залізо залежний зв'язуючий білок 2 (IRP2) [108]. З іншого боку, накопичення заліза спричиняло загибель клітин через АФК опосередкований апоптоз, некроз і фероптоз [109]. Поширеність застосування МНЧ та МНК на основі оксидів заліза у магнітній нанотераностиці злоякісних пухлин була пов'язана з роллю заліза в метаболізмі пухлин.

Фізико-хімічні властивості зумовлювали поведінку МНЧ та МНК при взаємодії з клітинами. МНЧ мали високе співвідношення площі поверхні до об'єму, що сприяло їхній реакційній здатності та цільовій доставці ліків. Навантаження редокс-, механо-, термо- і рН-чутливими матеріалами змінювало поверхневі властивості МНЧ. До прикладу, магніто-механохімічний синтез мав перевагу в можливості отримання МНК із заданими характеристиками шляхом вибору фіксованих параметрів ПМП, ЕМП і механічної вібрації під час навантаження МНЧ протипухлинними препаратами [110].

Суперпарамагнітні наночастинки (СМНЧ) оксиду заліза переважно характеризувалися розміром < 15 нм і великою магнітною сприйнятливістю до зовнішніх магнітних полів. Вони не мали залишкової намагніченості, коли поля не були прикладені. СМНЧ широко використовуються у магнітній гіпертермії для нагрівання пухлин вище 43 °С. Приміром, вплив ЕМП частотою 118 кГц та МНК на основі СМНЧ, починаючи з 2-гої доби після перещеплення, призводив до зменшення на 80% об'єму експериментальної моделі гліоми U251-SP і триразового збільшення експресії фактора некрозу пухлин (TNF- α) порівняно з використанням лише МНК. ЕМП частотами $242,5$ та 293 кГц з МНК ініціювали зменшення об'єму експериментальної моделі карциноми ободової кишки СТ-26 та шийки матки HeLa відповідно на 70% і 75% аніж самостійний вплив МНК. Протипухлинний ефект пояснювався термоіндукованим некрозом та апоптозом при температурі > 43 °С [111], [112], [113].

Одним із обмежень використання феромагнітних наночастинок (ФМНЧ) у магнітній гіпертермії було визначено різну орієнтацію спінів у магнітних доменах. ФМНЧ магнетиту з розміром > 17 нм були багатодоменими і мали здатність запам'ятовувати величину ПМП, за якої вони були механічно деформовані (залишкова намагніченість) [114], [115]. Тому застосування ФМНЧ було оптимальнішим для протипухлинного впливу на основі магніто-механохімічного та теплового ефекту (при помірному нагріві пухлини < 42 °С) [116]. Задаючи різні параметри ПМП та ЕМП під час магніто-механохімічного синтезу МНК, навантаженого ДОКС (МНК-ДОКС) з ФМНЧ, здійснювали модуляцію рівнів

вільного заліза, NO-FeS-протеїну, убісеміхінону та АФК у пухлині. Крім того, застосування ПМП з величиною магнітної індукції 8 мТл та ЕМП з частотою 42 МГц під час синтезу МНК-ДОКС та ІПГ щурів-пухлиноносіїв призвело до найбільш вираженого протипухлинного ефекту. Різниця у кінетиці росту та виживаності тварин зі злоякісною пухлиною грудної залози карциносаркомою Уокер-256 між впливом ІПГ з ПМП та МНК відносно офіційного ДОКС становила приблизно 15% [117].

Магнітні властивості МНЧ впливали на конформаційні зміни протипухлинних препаратів, навантажених на їхню поверхню. Різниця між впливом СМНЧ і ФМНЧ на просторову орієнтацію молекул ДОКС у МНК була попередньо пов'язана з силами, які впливали на ДОКС на поверхні МНЧ, що своєю чергою зумовлювало процеси переносу електронів між МНЧ та протипухлинними агентами. Конформаційні зміни дозволяли молекулам ДОКС інтеркалювати між парами азотистих основ дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) у пухлинних клітинах. Ріст карциносаркоми Уокер-256 у тварин, яких піддавали впливу МНК-ДОКС на основі ФМНЧ, був утричі більшим, ніж у тварин, які отримували МНК-ДОКС на основі СМНЧ під дією тих самих параметрів ІПГ з ПМП [42].

1.3.2. Параметри постійного магнітного та електромагнітного полів

Оскільки магнітне поле зазнавало модифікації при проходженні через організм людини значно менше, ніж електричне [118], ПМП забезпечувало точніший контроль над розподілом МНК. Звісно, враховуючи гетерогенність притаманну злоякісним пухлинам, прецизійне планування магнітних сил у біологічних тканинах залишається складним завданням.

Порівнюючи вплив просторово однорідних та неоднорідних ПМП, варто зазначити, що ФМНЧ діаметром 350 нм ініціювали на $\sim 15\%$ меншу життєздатність клітин карциноми шийки матки HeLa у відповідь на просторово неоднорідне ПМП ($\nabla B = 0\text{--}23,3$ Тл/м), ніж на однорідне ПМП ($B = 0,005\text{--}0,025$ Тл). Протипухлинний вплив було асоційовано з активацією механочутливих іонних каналів, що збільшували внутрішньоклітинну концентрацію Ca^{2+} , ініціювали сигнальний шлях

апоптозу за участі каспази 3 та 7. Більші за розміром ФМНЧ чинили більш виражений магніто-механохімічний ефект на клітини. Наприклад, МНЧ діаметром 150 нм, 250 нм і 350 нм створювали сили 0,04 пН, 0,11 пН і 0,20 пН відповідно. На цій підставі доцільно розглядати взаємозв'язок між гетерогенністю пухлинних клітин та розподілом МНЧ в умовах неоднорідного ПМП. Також було встановлено, що клітини переважно зазнавали загибелі через некротичні зміни внаслідок пошкодження ядерної та цитоплазматичної мембран після впливу ФМНЧ та ЕМП частотою 3,33 Гц [119]. У роботі [120] було показано, що ЕМП частотою 2 Гц знижувало активність глутатіонпероксидази-4 та ініціювало фероптоз злоякісних клітин у тварин-пухлиноносіїв, які отримували тераностичний МНК на основі ФМНЧ. В останньому випадку, МНК виступав як локалізатор ЕМП та контрастний агент для радіологічної візуалізації методом МРТ.

В іншому дослідженні клітини гепатобластоми людини Huh-7 і гепатоцелюлярної карциноми HepG2 піддавали впливу імпульсних магнітних полів (10 пульсів тривалістю ~ 15 мкс з інтервалом 10 с, величина магнітної індукції – 5 Тл та 8 Тл) з МНК на основі СМНЧ, що призводило до вдвічі вищого рівня продукції супероксидного радикала та знижувало життєздатність клітин приблизно удвічі порівняно з самостійною дією МНК. Магніто-механохімічні ефекти МНК пошкоджували мітохондріальні та лізосомальні мембрани, що призводило до утворення АФК та запускало апоптоз пухлинних клітин. Серед проблем доставки МНК, навантажених протипухлинними препаратами, була агрегація МНЧ при взаємодії з клітинами крові, сироваткою і стінками судин до того, як вони потрапляли у пухлину. Враховуючи здатність МНЧ до агрегації, кластери розміром 600 нм діяли силою до 1300 пН при градієнті магнітного поля 3400 Тл/м [121]. Одним із рішень для попередження обмеженої доставки МНЧ унаслідок агрегації була модифікація їхньої поверхні шляхом нанесення біополімерів чи благородного металу. Золото – привабливий матеріал для підвищення біосумісності МНЧ зі збереженням здатності ініціювати вільні радикали, включаючи АФК та активні форми азоту (АФН) [122], [123].

Вплив ПМП з магнітною індукцією менше 1,4 Тл та МНК, навантажених хіміотерапевтичними або імунотерапевтичними агентами, продемонструвало значно вищу протипухлинну активність [124], [125], [126], [127], [128], аніж самотійний вплив МНК [129], [130], [131]. МНК, навантажені протипухлинними агентами, під впливом ПМП з магнітною індукцією від 0,4 Тл до 1 Тл ініціювали продукцію АФК і потенціювали дію офіцинальних хіміотерапевтичних препаратів, таких як ДОКС та паклітаксел. Окрім окисного стресу, індукованого ДОКС і паклітакселем у пухлинних клітинах [132], [133], отримані результати пояснюються магніто-механохімічним ефектом МНЧ на інтеркаляцію ДОКС у ДНК або полімеризацію мікротрубочок паклітакселем у злоякісних клітинах [128], [129]. Підвищений рівень АФК після магніто-механохімічного ефекту МНК-ДОКС та ПМП з магнітною індукцією до 1 Тл призводив до накопичення білків зі зміненою конформацією в ендоплазматичному ретикулумі клітин аденокарциноми грудної залози людини лінії MCF-7 [125].

Важливим аспектом магнітної нанотерапії є кількість і тривалість сеансів лікування. У роботі [126] було встановлено, що багаторазове (на 1-шу, 5-ту, 9-ту та 13-ту добу після перещеплення пухлини) застосування ПМП з величиною магнітної індукції 80 мТл протягом 2-х годин на день покращувало доставку МНК-ДОКС, викликало у 2,7 раза більш виражене пригнічення росту експериментальної моделі злоякісної пухлини карциноми SKBR3, аніж 12-годинна одноразова експозиція ПМП. Спостерігалася значна різниця в агрегації, розподілі МНК-ДОКС і рівнях заліза в пухлині між тваринами, які зазнавали одноразового і багаторазового опромінення ПМП протягом 33-х діб. Окремим технічним рішенням стало врахування кількості постійних магнітів під час магнітної нанотерапії. Вплив двох протилежно поляризованих магнітів з величиною магнітної індукції 0,66 Тл продемонстрував більшу глибину проникнення введених внутрішньовенно МНЧ у паренхіму пухлини (збільшення накопичення МНК у тричі та збільшення відстані проникнення МНК учетверо) порівняно з одним магнітом [130]. ППГ для онкологічних пацієнтів зазвичай складалась із декількох сеансів лікування тривалістю кожної близько 30 хвилин [3], [134]. Показано, що

РМП при обертанні з частотою 15 Гц неодимового магніту з магнітною індукцією 40 мТл посилювало МНК-залежне утворення АФК і пошкодження мембрани злоякісних клітин гліобластоми U87, що сприяло їхньому некрозу й апоптозу [135]. Були виявлені значні відмінності в рівнях вільного заліза, лактоферину, білків NO-FeS, убісеміхінону та кінетиці росту злоякісних пухлин між тваринами під впливом МНК-ДОКС з ПМП у діапазоні 40–600 мТл й ЕМП з частотою 42 МГц [42].

Загалом, наведені експериментальні дослідження на тваринах із визначенням впливу ІПГ з ПМП та МНК, показали збільшення протипухлинної активності на 10–35% порівняно з дією офіцінального ДОКС. Протипухлинний ефект ІПГ з ПМП та МНК зумовлено двома механізмами: магнітохімічним ефектом – спін-залежною регуляцією кінетики рекомбінації вільних радикалів у злоякісних клітинах і магнітomeханічним ефектом – ініціацією конформаційних змін у ДОКС, навантаженому на МНЧ, та продукцією АФК.

1.4. Магнітна нанотераностика злоякісних пухлин

Магнітна нанотераностика – це підхід, що поєднує діагностику та лікування злоякісних пухлин завдяки багатофункціональності МНЧ, які забезпечують більш таргетну (цільову) доставку та посилення протипухлинного ефекту хіміотерапевтичних агентів у відповідь на вплив ПМП та ЕМП, а також надають додаткову кількісну інформацію при радіологічній візуалізації (МРТ, УЗД, КТ, рентгенографія). МНЧ підвищують контрастність медичного зображення завдяки різниці в інтенсивності сигналу при МРТ, ехогенності й жорсткості при УЗД, рентген-щільності при рентгенівській візуалізації між зоною інтересу пухлини та навколишніми тканинами [136], [137].

Параметри ПМП і радіочастотних ЕМП є важливими в МРТ-візуалізації для дослідження злоякісних пухлин і впливу МНК. Час спін-решітчастої релаксації (T_1) характеризує взаємодію між спінами досліджуваної системи (атомного ядра) з сусідніми молекулами чи атомами (решітка), що призводить до відновлення поздовжньої компоненти намагніченості до рівноважного стану. Час спін-спінової

релаксації (T_2) визначає процес втрати фазової когерентності спінів у межах досліджуваної системи, що спричиняє зменшення намагніченості в поперечній площині [138]. МНЧ були використані як переносники лікарських засобів та окисно-відновні зонди для моніторингу змін редокс-стану пухлини. Зміни рівнів вільних радикалів досліджували на МРТ, оскільки вони змінювали конформацію МНК, кількість молекул води в координаційній сфері або час ротаційної кореляції [139].

Найпоширеніші контрастні агенти для МРТ-візуалізації злоякісних пухлин на практиці використовують іони гадолінію (Gd^{3+}), які мають парамагнітні характеристики і в першу чергу скорочують час релаксації T_1 [140]. Проте було встановлено, що деякі гадолінієвмісні контрастні агенти спричиняли пошкодження внаслідок окисного стресу та загибель клітин через трансметалізацію з Fe^{3+} та конкуренцію з Ca^{2+} у біохімічних процесах [141]. З позиції магніто-механохімічних ефектів, ПМП та ЕМП діяли на хелати гадолінію, накопичені в пухлині та її мікрооточенні. Застосування неоднорідного ПМП з магнітною індукцією $B \leq 1,2$ Тл та гадолінієвмісного контрастного агента (Gd-DOTA) ініціювало магнітну силу величиною 4–16 пН на перитонеальні макрофаги, ізольовані від мишей лінії C57BL/6 (H-2b). Магнітна сила, опосередкована Gd-DOTA, не тільки спричиняла різний просторовий розподіл клітинних культур, а й змінювала організацію органел усередині макрофагів. Перерозподіл мітохондрій і цистерн апарату Гольджі, які беруть участь у генерації та детоксикації АФК, був пов'язаний із впливом ПМП і Gd-DOTA на полімеризацію актину через сигнальний шлях RhoA [142]. МРТ-оцінка відповіді на лікування продемонструвала зменшення розміру карциноми легень Льюїс на $\sim 12\%$ у мишей C57BL/6 після впливу магніто-механохімічно синтезованого МНК-ДОКС на основі гадолінієвмісного контрастного агента (Gd-DTPA) з ПМП $B = 0,4$ Тл та ЕМП з частотою 42 МГц, відносно самостійної дії МНК або офіційного ДОКС. Дія МНК-ДОКС призводила до підвищення рівня вільного заліза в мітохондріях пухлинних клітин приблизно в 5 і 24 рази відповідно, порівняно з дією МНК-ДОКС + ПМП + ЕМП та ДОКС окремо. Кінетика росту пухлини негативно корелювала з фрактальною

розмірністю перитуморальної тканини на МРТ-зображеннях тварин-пухлиноносіїв після самостійного впливу ДОКС, тоді як сильний позитивний кореляційний зв'язок було відмічено після комбінованого впливу МНК-ДОКС + ПМП + ЕМП [143], [144].

Магнітне насичення СМНЧ та ФМНЧ у відповідь на прикладені поля, що широко застосовуються в МРТ з величиною магнітної індукції 1,5–3 Тл та частотою 40–130 МГц пригнічувало магнітні флуктуації і таким чином створювало локальне збурення магнітного поля дипольним джерелом, яке скорочувало час релаксації T_2 [112], [113], [116], [120], [127], [128], [130]. Альтернативна стратегія передбачала застосування ПМП з магнітною індукцією $\sim 0,13$ мТл для використання МНЧ як T_1 -контрастних агентів, хоча СМНЧ розміром до 5 нм візуалізувались як T_1 -контрастний агент і за умов ПМП з більшою магнітною індукцією [145]. Дослідження впливу тераностичного МНК та ЕМП на експериментальній моделі меланоми K1735 засвідчило зменшення об'єму пухлини на $\sim 35\%$ відносно самостійної дії МНК та скорочення часу спін-спінової релаксації (T_2) при МРТ-візуалізації [116]. До того ж застосування МНК на основі ФМНЧ та ПМП з магнітною індукцією $B = 630$ мТл тривалістю 3 години щодня протягом 14 діб, починаючи з 3-го дня після перещеПЛення експериментальної моделі меланоми М-3, викликало зменшення об'єму пухлини на $\sim 35\%$ відносно самостійної дії МНК і скорочення часу релаксації T_2 на МРТ [146].

Варто відмітити, що використання тераностичного МНК під впливом ультразвуку при частоті 1 МГц і ПМП з магнітною індукцією 0,1 Тл ініціювало генерацію нанобульбашок дигідросульфиду (H_2S) в пухлинних клітинах. МРТ та УЗД дозволили візуалізувати МНК: МНЧ скорочували час релаксації T_2 , тоді як газ H_2S діяв як контрастний агент при УЗД. Життєздатність та модуль пружності Юнга клітин гепатоцелюлярної карциноми НерG2 були, відповідно, на $\sim 35\%$ і $\sim 25\%$ нижчими у порівнянні з самостійним впливом МНК. Очевидно, у цьому випадку на магніто-механохімічні ефекти МНК, що ініціювали продукцію АФК і порушення цитоскелету при магнітній силі (> 320 пН), впливав і розрив нанобульбашок, і рівень Ca^{2+} , які потенціювали індукцію апоптозу та некрозу

злоякісних клітин [147]. У роботі [148] було проведено МРТ- та УЗД-візуалізацію, а також оцінено вплив МНЧ на основі оксиду заліза, навантажених ДОКС, під дією ЕМП на кінетику росту експериментальної злоякісної пухлини карциноми Герена. При цьому магніто-механохімічні ефекти ініційовані МНЧ та ЕМП, зокрема визначення рівнів вільних радикалів у пухлині, залишилися поза межами дослідження.

Розглянувши магнітні властивості МНК і параметри прикладених зовнішніх ПМП та ЕМП, слід зазначити, що магніто-механохімічні ефекти, які вони ініціювали, не були лінійними. Одним із підходів до характеристики цього взаємозв'язку є застосування методів, заснованих на нелінійній динаміці. Модуляція утворення АФК і редокс-сигналіngu була реалізована шляхом впливу на взаємодію між МНК, ПМП та ЕМП у злоякісній пухлині, а також її мікрооточенні. Однак на додаток до факторів пов'язаних з міжпухлинною та внутрішньопухлинною гетерогенністю було виявлено значну варіабельність у дизайні проведених експериментальних досліджень (моделі пухлин, розмір, склад і концентрація МНК, параметри ПМП та ЕМП). Наступний підрозділ містить огляд обмежень і викликів, які пов'язані з трансляцією магнітної нанотераностики злоякісних пухлин, заснованої на модуляції редокс-стану пухлини з допомогою магніто-механохімічного ефекту, в клінічну онкологічну та радіологічну практику.

1.5. Обмеження та виклики для трансляції у клінічне застосування

Універсальність магнітних нанотехнологій обумовила широкий спектр застосувань для діагностики та лікування злоякісних новоутворень, що поглибило розуміння стохастичних процесів, пов'язаних із редокс-станом пухлини у відповідь на магніто-механохімічний ефект МНЧ на рівні окремих електронів, атомів, молекул, клітин і тканин. Хоча результати досліджень *in vitro* та *in vivo*, розглянені у попередніх підрозділах, вказували на більш виражений ефект протипухлинних агентів та доповнення діагностичної інформації при візуалізації з МНЧ під впливом ПМП та ЕМП, кількість клінічних досліджень залишається достатньо обмеженою

[149], [150], [151]. Значну увагу наукової спільноти зосереджено на доклінічних дослідженнях, які необхідні для вирішення питань, пов'язаних з формуванням білкової корони, доставкою та токсичністю МНЧ у комбінації з ПМП та ЕМП для прискорення впровадження магнітної нанотераностики в клінічну практику.

Серед питань, що стосуються магнітного націлювання (таргетної доставки) МНЧ у злоякісні пухлини, є адсорбція білків на поверхні МНЧ з біологічних середовищ організму – процес формування білкової корони. Деякі білки утворювали міцні зв'язки з поверхнею МНЧ і мали повільну швидкість обміну з оточуючим середовищем (жорстка корона), тоді як інші були менш стабільними та схильними до взаємодії з середовищем (м'яка корона) [152]. Взаємодія між МНЧ і біологічними об'єктами також залежала від складу та властивостей білкової корони, оскільки МНЧ проходили через кровоносні судини, а також біологічні рідини, до пухлини [153]. Швидке виведення МНЧ з кровотоку і нецільова доставка виникали через формування білкової корони [154]. З огляду на це МНЧ часто покривали полімерами, такими як поліетиленгліколь і декстран, для модифікації фізико-хімічних взаємодій на поверхні наночастинки та формування корони [155]. Раніше було проведено дослідження магніто-механохімічного ефекту на взаємодію МНЧ з білками в біологічних середовищах. Наприклад, магнітне націлювання модифікованих глутаміном МНЧ зменшувало загальну кількість поглинутих білків і частку залізов'язуючих білків у короні після 10-хвилинного впливу ПМП з магнітною індукцією 204 мТл на мишах лінії BALB/c [156]. Вплив ЕМП з частотою 345 кГц протягом 15 хвилин призводив до збільшення періоду напіввиведення МНЧ приблизно в 1,9 раза у мишей BALB/c. Зміни у складі білкової корони, зокрема, співвідношення між опсонінами та дисопсонінами, після дії ЕМП з частотою 345 кГц та напруженістю магнітного поля 200, 250 і 300 Е призводили до змін у накопиченні МНЧ у печінці та селезінці. Отримані результати було пояснено зміною конформаційної динаміки оточуючих білків унаслідок руху МНЧ та помірного нагріву ($< 43\text{ }^{\circ}\text{C}$) під час доставки [157], [158], [159].

Іншим питанням є накопичення МНЧ у пухлині та її мікрооточенні. Морфологічні та функціональні особливості судинної мережі пухлини (наприклад,

фенестрація ендотелію, хаотичний кровотік) погіршували крово- та лімфотік, що призводило до ефекту підвищеної проникності та ретенції (enhanced permeability and retention) [160]. Просторова та часова гетерогенність злоякісних пухлин на різних рівнях організації залишається потужним бар'єром для цільової доставки ліків. Наразі запропоновано моделі хаотичного розташування судин, позаклітинного матриксу і механічних сил, що генеруються під час процесів росту на різних рівнях пухлинної ієрархії [161]. Ці фактори впливають на раннє вивільнення протипухлинних препаратів з МНК та обмежують їхню доставку до центру і периферії пухлини. Більш ранні дослідження показали, що лише 0,7% (медіана) введених МНЧ і МНК були доставлені в солідні пухлини шляхом реалізації активних і пасивних стратегій цільової доставки. Слід відмітити, що у роботі [162] аналіз включав невелику кількість досліджень присвячених магнітному націлюванню, а найвища ефективність доставки спостерігалася при злоякісних пухлинах шкіри (1,3%), головного мозку (0,8%) і печінки (0,7%).

Значний дослідницький інтерес спрямовано на розробку чутливих до зовнішніх стимулів покриттів і лігандів, однак вони мають певні обмеження, внаслідок коливань редокс-стану, рН, температури й артеріальної напруги зсуву. Спрямування МНК в зони з найбільшою напруженістю поля було реалізовано з допомогою неоднорідних ПМП, при цьому просторова організація МНК у пухлині задавалася на основі відповідним чином розроблених моделей градієнта поля [78], [163]. Бажаний градієнт магнітного поля для нанотерапії часто досягався з допомогою набору з декількох постійних магнітів [164]. Важливим питанням при доставці МНК до глибоко розташованих пухлин є створення достатньої магнітної сили для ініціації магніто-механохімічного ефекту на злоякісні клітини. МНЧ є привабливими для тераностики злоякісних пухлин завдяки можливості дистанційного впливу на клітинні функції. МНЧ також використовують для вимірювання механічної жорсткості біомолекул і внутрішньоклітинних органел. Магнітний пінцет – потенційний інструмент для дослідження еластичності біомолекул шляхом прикладання механічних сил [165]. Крім того, було виявлено, що ППГ покращує доставку МНК, збільшуючи швидкість кровотоку, а отже, вклад

ефекту підвищеної проникності та ретенції [8], [166]. Причому нерівномірний розподіл питомого коефіцієнта поглинання енергії електромагнітного поля (specific absorption rate, SAR) міг точніше відтворювати хаотичні патерни пухлинного кровотоку під час дії ЕМП при ІПГ [167].

У роботах [168], [169], [170] показано, що МНК на основі оксиду заліза здатні залишатись у тканинах тварин до 580 днів після внутрішньовенного введення. Виведення МНК із системної циркуляції залежало від утворення білкової корони та подальшої взаємодії з ретикулоендотеліальною системою. Відомо, що фагоцити поглинають МНК і накопичують їх переважно в печінці та селезінці. МНК розміром менше 10 нм частіше виводились через нирки [171]. Печінка – основний орган детоксикації крові та ключовий регулятор системного метаболізму заліза, що бере участь у підтримці окисно-відновного гомеостазу [172], [173]. Фенестри розмірами ~ 107 нм у печінкових синусоїдах полегшували перенесення твердих частинок з кровотоку до гепатоцитів [174]. Купферівські клітини (печінкові макрофаги) фагоцитували МНК із синусоїдних капілярів після розпізнавання опсонінів у їхній білковій короні. Здатність заліза стимулювати вироблення АФК при взаємодії з системою цитохромів Р450 і призводити до окисного стресу – один із механізмів виникнення токсичності [175]. ЕМП застосовували для модуляції редокс-стану печінки та зменшення токсичності, спричиненої ДОКС, у щурів-пухлиноносіїв [176]. Хоча вплив ПМП самостійно зумовлював цільову доставку МНК у клітини гепатоцелюлярної карциноми у печінці, на ці процеси також впливало швидке поглинання в ретикулоендотеліальній системі [177]. Дослідження впливу МНК з ПМП або ЕМП *in vivo*, як правило, демонстрували зниження побічних ефектів, пов'язаних з гепатотоксичністю, порівняно з самостійним впливом МНК або офіційними хіміотерапевтичними агентами [127], [178], [179], [180]. Результати, отримані в ході експериментальної оцінки токсичності МНК і МНК *in vivo* протягом тривалого періоду часу, представляли значний крок для медичної трансляції.

Незважаючи на те, що більшість доклінічних експериментальних досліджень підтверджують терапевтичні ефекти МНК, модульованих ПМП та ЕМП, існують

докази того, що параметри електромагнітного опромінення можуть бути підібрані з метою активації редокс-сигнальних шляхів, які стимулюють ріст та розповсюдження злоякісних пухлин. З огляду на припущення, що магнетитові МНЧ накопичуються в організмі людини і генерують АФК у відповідь на ПМП та ЕМП із навколишнього середовища, окисний стрес, опосередкований заліозалежними механізмами, може відігравати роль у магнітокарциногенезі [181], [182], [183]. Вплив ПМП з магнітною індукцією величиною 0,5 мТл або 30 мТл та МНЧ призводив до збільшення життєздатності клітин НаСаТ на ~ 10% і проліферативної активності на ~ 20% за рахунок зниження продукції АФК [184].

Вищенаведене свідчить про те, що проведені доклінічні дослідження з використанням відомих біоінженерних засобів для магнітної нанотерапії злоякісних пухлин мають обмеження щодо персоналізації магніто-механохімічних ефектів, ініційованих МНЧ. Це сповільнює проведення подальших досліджень і трансляцію їхніх результатів в онкологічну та радіологічну практику.

Висновки до розділу 1

Гетерогенність, притаманна злоякісним пухлинам, зумовлює необхідність застосування підходів, заснованих на нелінійній динаміці, фрактальному та автокореляційному аналізі, для дослідження кінетики росту та текстурних параметрів при візуалізації. Взаємодія між діагностичними та терапевтичними компонентами в одній платформі МНЧ надає додаткову кількісну інформацію при радіологічній візуалізації, а також модулює окисно-відновні та біомеханічні параметри злоякісних пухлин. Магнітні властивості МНК дозволяють дистанційно доставляти їх до пухлинного вогнища і контролювати вплив під дією зовнішніх ПМП та ЕМП. Дані аналізу наукової та патентної літератури вказують, що наявні теоретичні підстави й експериментальні результати з використанням відомих біоінженерних засобів для ініціації магніто-механохімічного ефекту при ППГ з ПМП з допомогою МНК. Однак, усе ще існує загальна проблема розробки біоінженерних засобів для персоналізації магніто-механохімічного ефекту МНК на злоякісні пухлини.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Обґрунтування використаних матеріалів та методів

Зважаючи на предмет дисертаційного дослідження – біоінженерні засоби з використанням МНЧ для протипухлинного впливу та медичної радіологічної візуалізації експериментальної злоякісної пухлини, методи дослідження включали біоінженерні, радіологічні, морфологічні, фізико-технічні, фізико-хімічні й статистичні. На **рис 2.1** наведено дизайн проведеного дослідження у вигляді схеми, розроблений відповідно до рекомендацій з [185], [186], [187].

Перший крок полягав у виборі МНЧ та експериментальних моделей злоякісної пухлини. МНЧ на основі оксиду заліза (магнетиту) мали ряд переваг для застосування у магнітній нанотераностиці злоякісних пухлин, адже вони виступали як контрастні агенти при радіологічній медичній візуалізації й одночасно як платформа для доставки та потенціювання дії протипухлинних препаратів під впливом електромагнітного опромінення шляхом ініціації теплових і магніто-механохімічних ефектів на злоякісні клітини [188], [189]. Нанесення золота на поверхню МНЧ оксиду заліза зменшувало їхню агрегацію та підвищувало біосумісність. Вибір ДОКС у якості хіміотерапевтичного агента у складі МНК ґрунтувався на тому, що це офіційний препарат з добре дослідженим вільнорадикальним механізмом протипухлинного ефекту [122], [190], [191], [192]. Для магнітного націлювання (таргетної доставки) та прикладання магнітної сили на МНЧ і МНК скористалися доступним компактним неодимовим дисковим магнітом, який характеризувався високою коерцитивністю, залишковою намагніченістю та низькою електричною провідністю, що попереджало його істотний нагрів при ІПГ на частоті ЕМП 42 МГц [193]. Використання клітинної лінії інвазивної протокової аденокарциноми грудної залози людини MCF-7 зумовлено резистентністю до нагріву порівняно з іншими широко застосовуваними клітинними лініями пухлин грудної залози [194]. Вибір експериментальної моделі

карциносаркоми Уокер-256 було пов'язано зі швидким ростом цієї пухлини й ознаками карциноми та саркоми, вона широко вивчена і валідована для індукції пухлинного процесу у піддослідних тварин [195], [196].

Другий крок полягав у дослідженні МЛ злоякісних клітин карциносаркоми Уокер-256 з МНК з допомогою розробленого пристрою, принциповим технічним рішенням у якому було застосування РМП для механохімічного впливу та реєстрації фотонів МЛ біологічних об'єктів з МНЧ [197], [198].

Третій крок полягав у радіологічній візуалізації МНЧ у розробленому фантомі грудної залози для ІПГ [199]. З метою реалізації терапевтичного впливу помірний нагрів ($\leq 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) при індукційній гіпертермії ініціювали на частоті 42 МГц, аби попередити виникнення побічних ефектів, пов'язаних з непереносимістю тепла у пацієнтів і термо- та хіміорезистентністю пухлин при вищій температурі [74]. Візуалізація методом рентгенівського цифрового томосинтезу (РЦТ) була обґрунтована високою роздільною здатністю та значною різницею між рентгеніцильністю МНЧ і середовища клітин та можливістю пошарового аналізу їхнього розподілу у зоні інтересу фантома. Ультразвукова еластографія (УЗЕ) – це загально прийнятий і доступний метод візуалізації біомеханічних параметрів м'яких тканин [200]. Текстурний аналіз за розрахунками фрактальної розмірності, лакуарності та визначення модуля пружності Юнга дозволили оцінити вплив ПМП на гетерогенність формування кластерів МНЧ і зміни жорсткості зони інтересу пухлини з клітинами MCF-7. Життєздатність злоякісних клітин у відповідь на ІПГ з ПМП і МНЧ визначали за виключенням барвника трипанового синього при зміні проникності клітинної мембрани. Контроль температури у зоні інтересу пухлини здійснювали з допомогою цифрового термометра з волоконно-оптичним датчиком, що попереджало появу електромагнітних завад під час ІПГ.

Четвертий крок полягав у дослідженні впливу й оцінці відповіді карциносаркоми Уокер-256 на комбінацію МНК та ІПГ із застосованим аплікатором [201] на експериментальних тваринах. Для візуалізації та аналізу біомеханічних параметрів пухлини використовували УЗЕ. Ураховуючи те, що МРТ – це основний метод візуалізації пухлин м'яких тканин через їхню високу

контрастність та можливість диференціації, чутливість до явищ набряку, аналіз гетерогенності пухлин проводили на основі МРТ-зображень за розрахунком коефіцієнтів асиметрії та ексцесу [202], [203]. Кінетику росту пухлин порівнювали між експериментальними групами за розрахунком фактора росту φ та коефіцієнта гальмування росту κ [204], що враховували роль вільних радикалів у пухлинному процесі. Для визначення рівнів вільних радикалів (убісеміхінону, супероксидного радикала та оксиду азоту) використовували метод електронного парамагнітного резонансу (ЕПР), що є високочутливим до детекції парамагнітних центрів (неспарених електронів) у речовинах без пошкодження досліджуваного біологічного зразка [205]. Для оцінки морфологічних змін у пухлині під впливом магніто-механохімічного ефекту проводили гістологічний аналіз, використовуючи поширений метод фарбування гематоксиліном-еозином [206]. Процедури з тваринами проводилися відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Європейської директиви 2010/63/ЄС про захист тварин, які використовуються у наукових цілях.

Дизайн дисертаційного дослідження



Рис. 2.1. Дизайн дослідження біоінженерних засобів для магнітної нанотераностики злоякісних пухлин.

2.2. Магнітні наночастинки та магнітний нанокompозит

У дослідженні використовували МНЧ магнетиту (Fe_3O_4 , Sigma-Aldrich, США) [42] та МНК на основі комбінації МНЧ магнетиту з золотом (Au), синтезовані методом електронно-променевого випаровування та фізичної конденсації у вакуумі (Інститут електрозварювання ім. Є.О. Патона Національної академії наук України) [207]. Оскільки МНЧ Fe_3O_4 схильні до агрегації під час взаємодії з біологічним середовищем, що могло обмежити їхній розподіл і призвести до токсичних побічних ефектів, одним із рішень стало покриття поверхні МНЧ благородним металом. Золото – привабливий матеріал для підвищення біосумісності МНЧ за збереження здатності ініціювати вільні радикали, включаючи АФК та АФН [122] [123]. За рівномірної швидкості випаровування та розподілу потоків пари метод електронно-променевого випаровування і фізичної конденсації не призводив до утворення зв'язків між металами та лігандами, на відміну від методів хімічного синтезу МНЧ [208]. Зі змішаного парового потоку Fe та NaCl на мідній підкладці, що охолоджувалася водою, отримували конденсат Fe-NaCl. Після витримування отриманих зразків у вакуумі, напуску повітря та розгерметизації вакуумної технологічної камери конденсат відокремлювали від поверхні підкладки. Окиснення до магнетиту відбувалося при взаємодії з атмосферою МНЧ заліза, вкраплених у порах матриці NaCl. Отриманий зразок подрібнювали, відмивали від NaCl у великій кількості дистильованої води з відстоюванням та відбором осаду. Після того, як залишок магнетиту був зібраний і висушений, його подрібнювали з допомогою агатової ступки і повторно промивали від NaCl. Далі порошок МНЧ магнетиту обробляли в електронно-променевій установці паровим потоком золота при ретельному перемішуванні у мідній ємності, що охолоджувалася водою, для отримання нанокompозиту $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$. Для визначення концентрації золота в МНК використовували атомно-емісійну спектроскопію з індуктивно зв'язаною плазмою на приладі Optima 2100 DV (Perkin Elmer, США). Навантаження МНК протипухлинним антибіотиком антрациклінового ряду ДОКС (Pfizer, Італія) здійснювали шляхом магніто-

механохімічного синтезу з використанням магніто-механохімічного реактора (ДНП «Національний інститут раку», Україна) згідно з [110].

Для дослідження структури, МНК було візуалізовано методом трансмісійної електронної мікроскопії з допомогою голографічного електронного мікроскопа JEM-ARM200F NEOARM (JEOL, Японія), оснащеного камерою з пристроєм із зарядовим зв'язком Gatan з роздільною здатністю 4К на базі університету Салентина (Лечче, Італія) у рамках проєкту Центральноєвропейського консорціуму дослідницьких інфраструктур (CERIC-ERIC), 20232024 «Holo-TEM of magnetic nanocomplexes Au-Fe₃O₄-DOXO for a more effective fight against cancer». Попередньо виміряне 10-кратне зменшення розміру наночастинок після синтезу при прискорюючій напрузі 15 кВ [209] не було візуалізовано у цьому дослідженні при 200 кВ. Трансмісійні електронні мікрофотографії оброблено з використанням програмного пакета DigitalMicrograph v. 3.53.4137.0 software (Gatan, США), аналіз гістограми та гетерогенності (G) зображень проводили у програмному продукті ImageJ 1.53a (Національний інститут здоров'я (NIH), США) та Autocorrelation v.1.0 (ДНП «Національний інститут раку», Україна) шляхом розрахунку коефіцієнта просторової автокореляції Морана (**формули 2.1 та 2.2**) [210] [211] [212].

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n \sum_{j=1, j \neq i}^n w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{(\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2) \sum_{i=1}^n \sum_{j=1, j \neq i}^n w_{ij}}, \quad (2.1)$$

де n – кількість пікселів у зоні інтересу зображення; x_i – інтенсивність i -го пікселя; \bar{x} – середня інтенсивність зони інтересу зображення; w_i – зважуючий фактор, який є оберненим до відстані між пікселями i та j ;

$$G = 1 - r, \quad (2.2)$$

де r – коефіцієнт просторової автокореляції Морана зони інтересу зображення.

На **рис. 2.2** показано формування монокристалічного МНК з видимими міжплощинними відстанями на окремих МНЧ (**рис. 2.2, А, А', Б, Б'**) і відповідні швидкі перетворення Фур'є (**рис. 2.2, В та Г**). Кількісний аналіз отриманих

зображень встановив, що навантаження ДОКС шляхом магніто-механохімічного синтезу збільшувало середню яскравість з $89 \pm 0,2$ у.о. до $120 \pm 0,2$ у.о., знижувало значення коефіцієнта просторової автокореляції Морана з $0,58 \pm 0,01$ у.о. до $0,45 \pm 0,01$ у.о. ($p < 0,05$) і незначно впливало на розподіл наночастинок у МНК (рис. 2.2, Д та Е). Наночастинки Au мали середній розмір 11 нм, наночастинки Fe_3O_4 мали середній розмір 17 нм.

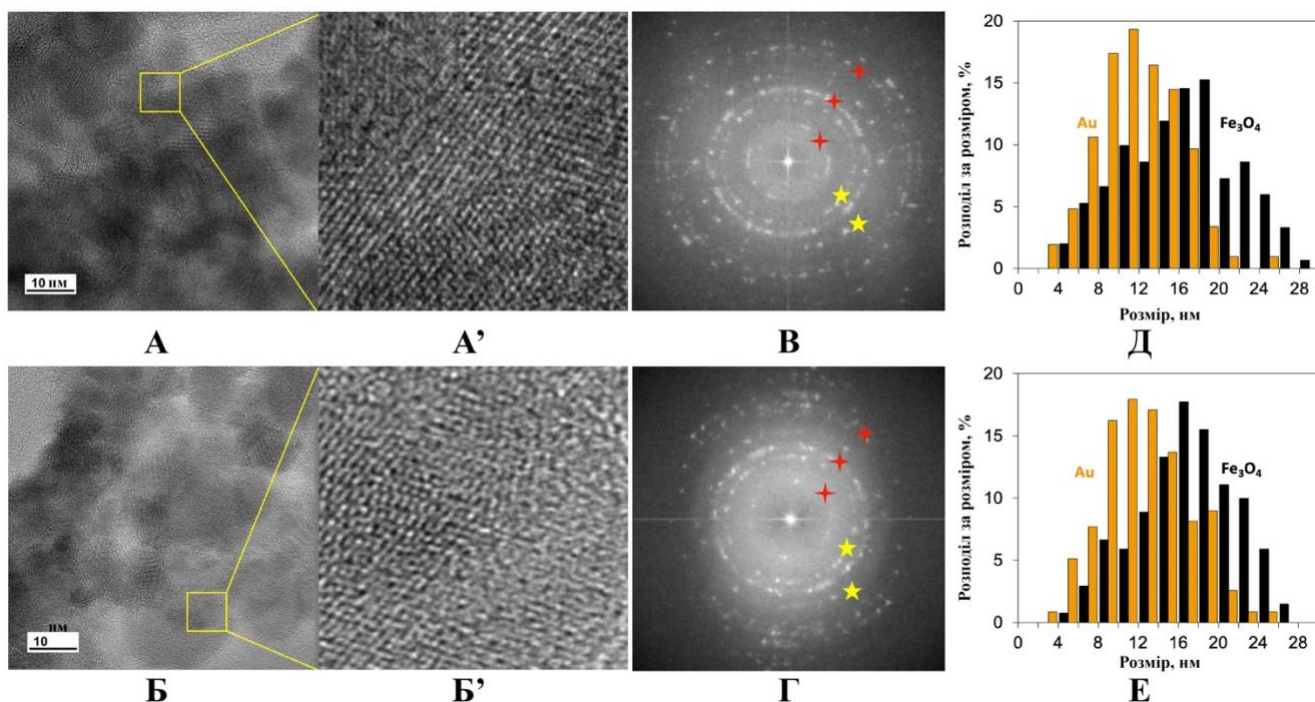


Рис. 2.2. Трансмісійні електронні мікрофотографії, відповідні швидкі перетворення Фур'є та розподіл розміру Fe_3O_4 -Au МНК до (А, А', В, Д) і після навантаження ДОКС (Б, Б', Г, Е). Трансмісійні електронні мікрофотографії (А, Б) та зі збільшеним масштабом (А', Б'); швидкі перетворення Фур'є (В, Г): жовті позначки відповідають внеску від золота, червоні позначки відповідають внеску від Fe_3O_4 ; розподіл наночастинок у МНК за розміром (Д, Е).

Збільшення середньої яскравості трансмісійних електронних мікрофотографій в 1,4 раза після навантаження ДОКС відображало зміну щільності розподілу падаючих електронів і, зважаючи на зв'язок між електричними і магнітними властивостями, зміну реактивності отриманого МНК [213]. На 22% нижче значення коефіцієнта Морана після навантаження ДОКС свідчило про

більший ступінь гетерогенності МНК [214]. До основних джерел гетерогенності МНК навантаженого ДОКС (МНК-ДОКС), які впливали на його реактивність, включали нелінійний характер розподілу ДОКС на поверхні МНК, неоднорідність просторової організації наночастинок Au і Fe_3O_4 та варіації розміру і хімічного складу поверхні МНК [215].

Варто зазначити, що наночастинки Fe_3O_4 несли на своїй поверхні острівкові структури Au, а не суцільну оболонку, що повністю знижувало б реактивність МНК і перешкоджало б утворенню ДОКС-індукованих АФК у пухлині та її мікрооточенні [216] під впливом ІПГ з ПМП. Крім того, до факторів, які сприяли ініціації АФК, також відносили перенос заряду від Au до Fe_3O_4 . Зміни в упорядкуванні Fe^{2+} і Fe^{3+} призводили до виділення кисню в результаті відновлення магнетиту на межі розділу з золотом [217]. У дослідженні [218] було виявлено, що суцільні та більшої товщини оболонки з золота знижують контрастність МНК Fe_3O_4 -Au при МРТ-візуалізації. Агрегація наночастинок Fe_3O_4 , покритих Au, також залежала від концентрації золота, доданого під час синтезу [219]. Механізм агрегації наночастинок золота суттєво відрізняється від механізму агрегації наночастинок магнетиту, де притягання між частинками відбувається не тільки за рахунок взаємодії між іонами у розчині, а й за рахунок їхніх магнітних моментів. Згідно з роботою [220], МНК-ДОКС був стабільним у розчині протягом 30 днів за стандартних умов зберігання.

Магнітні характеристики досліджували на вібраційному магнітометрі Vibrating Magnetometer 7404 VSM (Lake Shore Cryotronics Inc., США) з чутливістю 10^{-7} емо у магнітних полях напруженістю до 5 кЕ. Масу досліджуваних зразків вимірювали з чутливістю 10^{-5} г на електронних вагах AB135-S/FACT (Mettler Toledo, Швейцарія). Основні фізико-хімічні властивості МНЧ Fe_3O_4 [221] та МНК Fe_3O_4 -Au [214] наведено у **табл. 2.1**.

Основні фізико-хімічні властивості використаних магнітних наноматеріалів

Параметр	МНЧ Fe ₃ O ₄	МНК Fe ₃ O ₄ -Au
d, нм	50	13
вміст Au, мд	-	944
m _s , емо/г	56,3	50,9
H _c , Е	6,5	63

d – діаметр наночастинок, m_s – магнітний момент насичення, H_c – коерцитивна сила.

2.3. Вимірювання механолюмінесценції**2.3.1. Опис конструкції розробленого пристрою для реєстрації механолюмінесценції**

В основу розробки було поставлено задачу вдосконалення пристрою для реєстрації МЛ біопроб у рідкому стані за показниками МЛ під комплексним магнітомеханічним впливом. Поставлена задача вирішувалась тим, що у пристрої для реєстрації МЛ, що містив світлозахисну камеру, в якій було розміщено світлопрозору кювету з досліджуваним зразком, вузол механічного навантаження, фотометр, до якого входили фотоприймач, з'єднаний з блоком живлення та лічильником фотонів, для магнітомеханічного впливу на віконному дні світлопрозорої кювети було розміщено досліджуваний зразок з МНЧ у рідкому розчині, з зовнішньої частини вікна дна кювети було встановлено постійний магніт, з'єднаний з електродвигуном, а навпроти, зверху біля зовнішньої частини вікна кювети, було розміщено фотоприймач. Застосування досліджуваного зразка, який знаходився у рідкому розчині з МНЧ, у зоні впливу РМП дозволяло ініціювати магнітну силу й обертання зразка, як-от суспензії наночастинок, клітин або хімічних сполук. Наявність постійного магніту, який був механічно з'єднаний з електродвигуном, зумовлювала фіксований магнітомеханічний вплив за рахунок магнітної сили F та обертання магнітних наночастинок, що супроводжувалося МЛ

досліджуваного зразка, яку детектували з протилежного боку кювети через оптоволоконний кабель фотоприймачем. Запропонована конструкція забезпечувала дистанційне збудження та реєстрацію МЛ досліджуваних зразків у рідкому розчині з МНЧ з допомогою прецизійного магнітомеханічного впливу фіксованих магнітних сил та величини РМП. У результаті, збільшувалося відношення сигнал/шум при детектуванні світлових фотонів та оптимізувалася реєстрація МЛ, що розширює сферу використання пристрою. Схему пристрою для реєстрації МЛ злоякісних клітин зображено на **рис. 2.3**, а його зовнішній вигляд – на **рис. 2.4**. Принциповим технічним рішенням у пристрої було застосування РМП для механохімічного впливу та реєстрації фотонів МЛ біологічних об'єктів з МНЧ [197], [198]. Отже, пристрій складався зі світлозахисної камери (1), в якій було розміщено світлопрозору кювету (2). На внутрішню частину вікна дна кювети поміщали досліджувані клітини (3) з рідким поживним середовищем (4) та МНЧ (5). Із зовнішньої частини вікна дна кювети було встановлено постійний магніт (6), який було механічно з'єднано з електродвигуном (7), що забезпечувало обертання магніту. На протилежному боці, зверху зовнішньої частини вікна кювети було прикріплено світлопровід (8) з фотоелектронним помножувачем (9), який був з'єднаний з блоком високовольтного живлення (10) та лічильником фотонів (11).

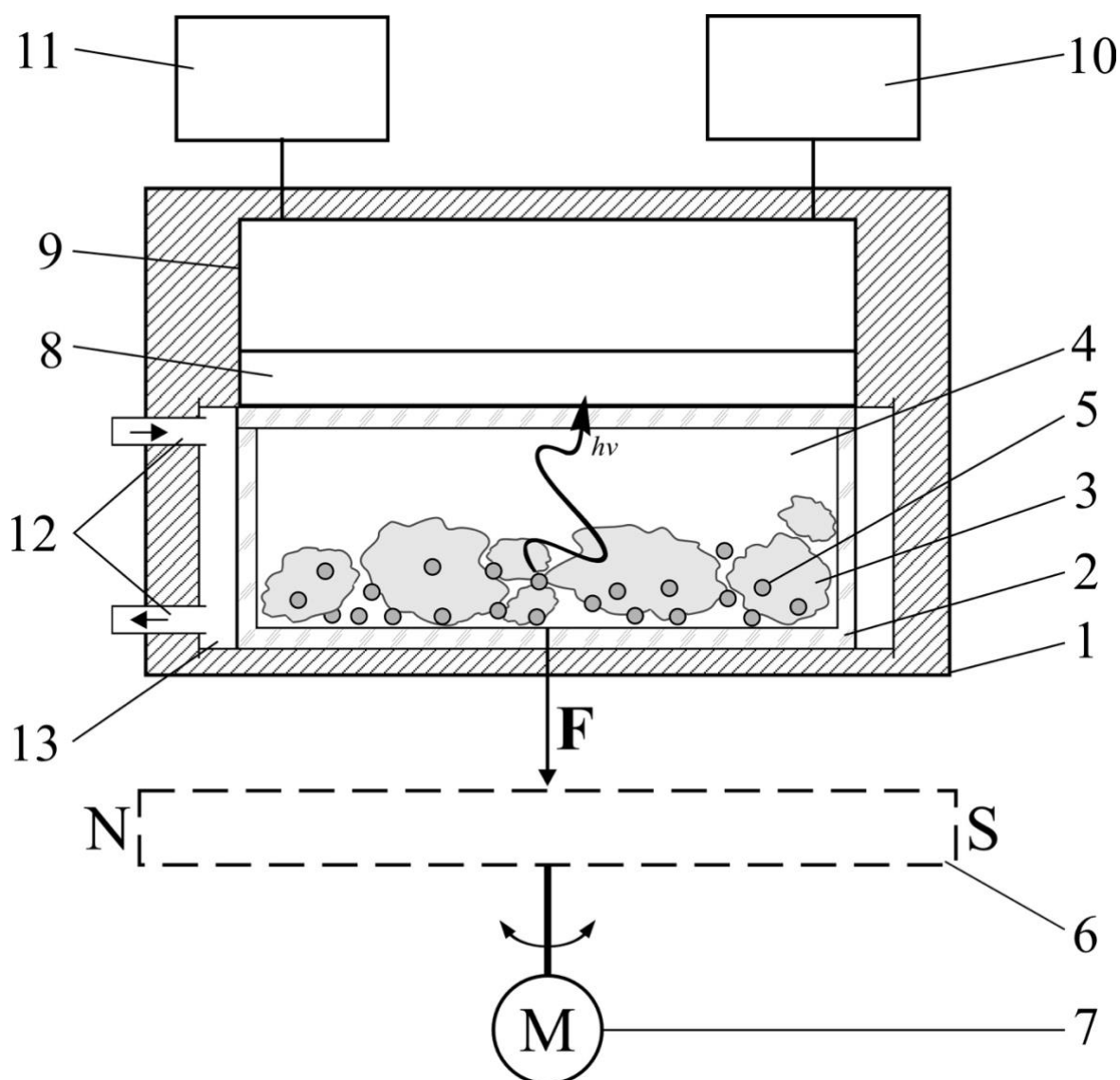


Рис. 2.3. Схема пристрою для реєстрації механолюмінесценції злоякісних клітин з магнітними наночастинками: 1 – світлозахисна камера; 2 – світлопрозора кювета; 3 – досліджувані клітини; 4 – поживне середовище; 5 – МНЧ; 6 – постійний магніт; 7 – електродвигун; 8 – світлопровід; 9 – фотоелектронний помножувач; 10 – блок високовольтного живлення; 11 – лічильник фотонів; 12 – трубопровід термостату; 13 – термостат; F – магнітна сила, $h\nu$ – механолюмінесценція.

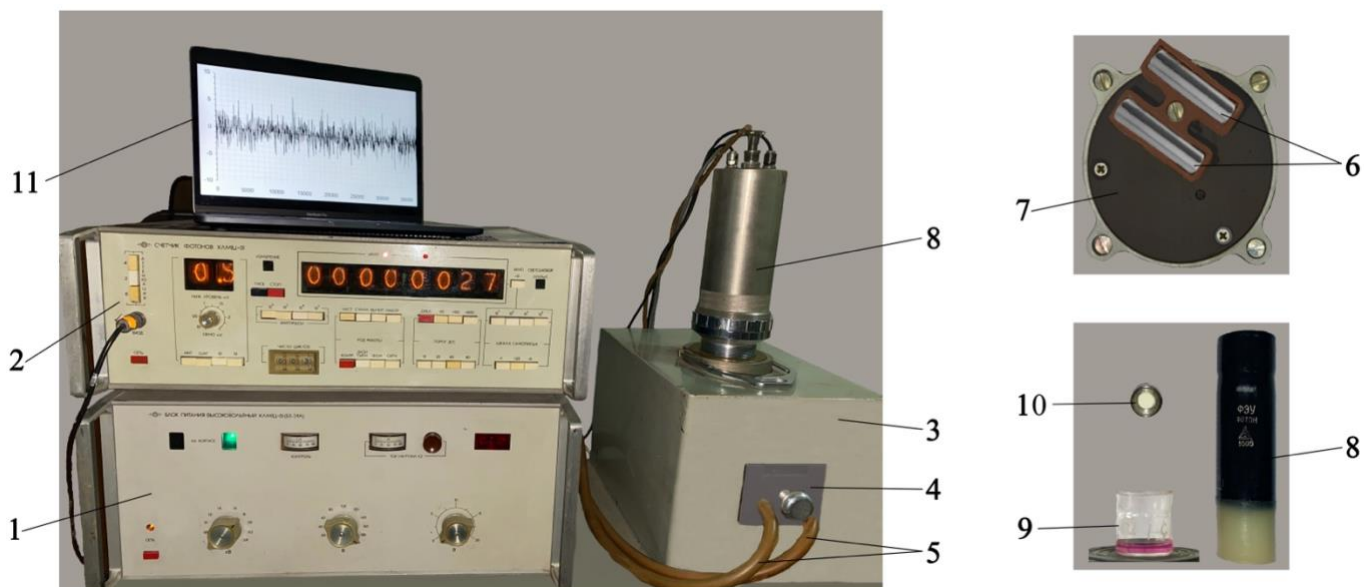


Рис. 2.4. Зовнішній вигляд пристрою для реєстрації механолюмінесценції злоякісних клітин з МНЧ: 1 – джерело високовольтного живлення ХЛМЦ-01 (Б5-24А); 2 – лічильник фотонів ХЛМЦ-01; 3 – світлозахисна камера; 4 – детекторний блок; 5 – трубопровід термостату; 6 – постійний магніт; 7 – електродвигун; 8 – фотоелектронний помножувач «ФОТОН» у світлозахисному циліндрі; 9 – світлопрозора кювета; 10 – індикатор світлового випромінювання (ЕЯ-1Е); 11 – ноутбук для аналізу отриманих результатів.

При подачі живлення на електродвигун він починав обертатися разом із закріпленим на його валу постійним магнітом, що було джерелом РМП. Згідно з законом Лоренца [222], РМП діє на рухомий заряд (МНЧ) із магнітною силою F , що визначається **формулою (2.3)**:

$$F = qv \times B, \quad (2.3)$$

де q – заряд МНЧ; v – швидкість руху МНЧ; B – магнітне поле;

РМП викликало рух МНЧ разом з досліджуваними злоякісними клітинами і рідким поживним середовищем, між ними та поверхнею дна світлопрозорої кювети, виконаного з кварцового скла, під впливом фіксованої величини магнітної сили виникало тертя. При цьому в більш еластичних злоякісних клітинах виникала

механічна деформація внаслідок магнітомеханічного впливу, що супроводжувалося МЛ.

У ході досліджень використовували обладнання науково-дослідної лабораторії медичної фізики та біоінженерії ДНП «Національний інститут раку». Сигнали МЛ реєстрували з допомогою фотоелектронного помножувача «ФОТОН» з чутливістю 200–650 нм та максимумом в області довжини хвиль 400–420 нм із живленням від високовольтного джерела Б5-24А, який було з'єднано з лічильником фотонів ХЛМЦ-01 (Меридіан, Україна). За індикатор світлового випромінювання використовували еталонне джерело ЕЯ-1Е зі спектром випромінювання люмінофору від 400 нм до 650 нм. МЛ злоякісних клітин з МНК ініціювали впливом РМП двох циліндричних неодимових ($\text{Nd}_2\text{Fe}_{14}\text{B}$) магнітів з максимальною магнітною індукцією кожного по 0,04 Тл та швидкістю обертання 10 об/хв протягом 1 хв для попередження механічного пошкодження досліджуваних клітин [223]. Розподіл магнітної індукції (**рис. 2.5, А**) будували на основі вимірювань датчика Холла, а розподіл магнітної сили, що діяла на МНК з діаметром 13 нм (**рис. 2.5, Б**) будували згідно з роботою [224] у програмному продукті COMSOL Multiphysics (Burlington, США) v. 5.6.

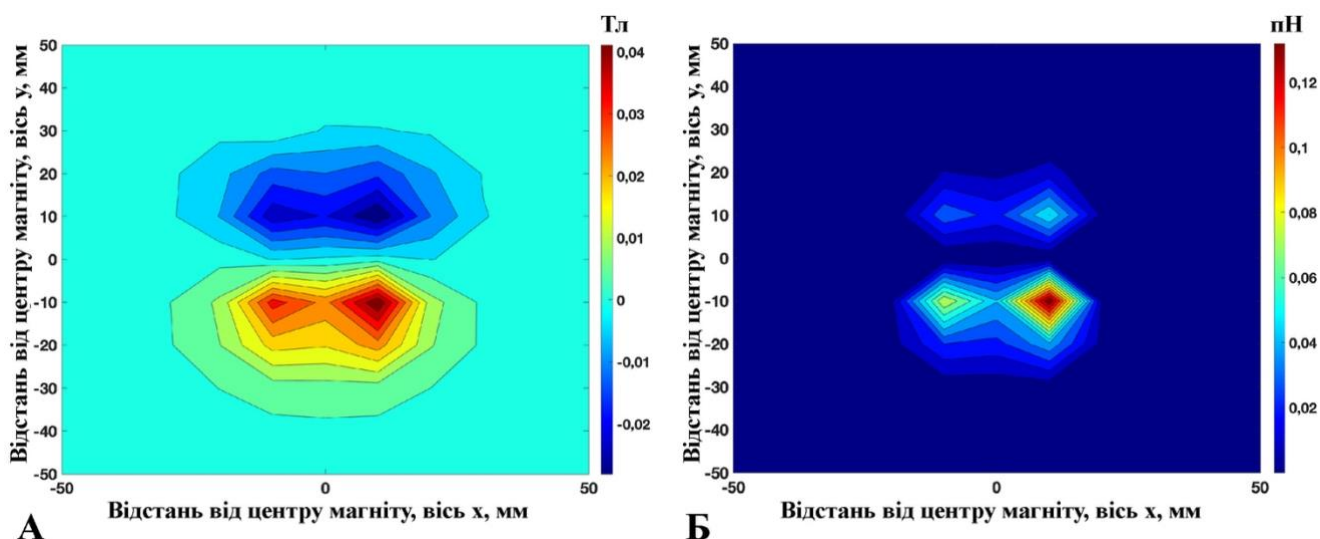


Рис. 2.5. Розподіл магнітної індукції (А) та магнітної сили (Б), що діяла на МНК діаметром 13 нм у клітинах карциносаркоми Уокер-256 під час впливу РМП.

Розрахована магнітна сила, що діяла на МНК $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$, варіювала від 0,12 до 0,03 пН на відстані < 50 мм від центра магніту [68]. Доцільно розглядати МЛ як наслідок пружної та пластичної деформації злоякісних клітин, викликаной МНЧ під впливом РМП, а не руйнуванням. Важливо відмітити, що розрив ковалентних зв'язків вимагає на кілька порядків більшої сили (1000–5000 пН) [15]. Неоднорідність прикладеного магнітного поля вимірювали методом коефіцієнта варіації [225], розраховуючи дисперсію магнітної індукції у просторі щодо її середнього значення. Неоднорідність магнітного поля коливалася між 32,57% і 99,87% на відстанях > 30 мм і < 30 мм від центра магніту відповідно. Для відстаней > 20 мм і < 20 мм неоднорідність варіювала у діапазоні від 42,94% до 82,96% [68].

2.3.2. Методика реєстрації механолюмінесценції злоякісних клітин з магнітними наночастинками

Дослідження МЛ злоякісних клітин з допомогою запропонованого дизайну пристрою складалося з декількох кроків. Експерименти проводили відповідно до рекомендацій з роботи [186]. Спочатку пристрій під'єднували до мережевого живлення та вимірювали показники індикатора світлового випромінювання ЕЯ-1Е. При фіксованих режимах роботи, різниця у 10 вимірах люмінесценції індикатора не перевищувала 5%. Далі реєстрували спонтанну ХЛ і МЛ від 0,2 мг/мл МНК $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ в 1 мл середовища 199 (Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Німеччина), що у темряві додавали у світлопрозору кювету. Далі, кювету встановлювали у світлозахисну термостатуєму камеру при 37°C у детекторний блок та реєстрували протягом 1 хв кількість фотонів ХЛ. Для ініціації МЛ, вмикали електродвигун з магнітами та паралельно реєстрували протягом 1 хв кількість фотонів МЛ злоякісних клітин з МНК. Наступним кроком реєстрували спонтанну ХЛ від 1 мл злоякісних клітин карциносаркоми Уокер-256 з клітинного банку ліній тканин людини і тварин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (50×10^5 клітин) у поживному середовищі 199 і МЛ при впливі РМП. Дана клітинна модель широко використовується у дослідженнях злоякісної пухлини грудної залози, оскільки має характеристики

карциноми та саркоми [195], [226]. Нарешті, було досліджено вплив МНК на злоякісні клітини з РМП і без нього. За умов проведених експериментів не було визначено достовірної різниці у життєздатності клітин з допомогою тесту виключення трипанового синього [68].

Застосування розробленого пристрою також можливе для реєстрації МЛ з отриманого матеріалу після біопсії під контролем мамографії, УЗД, МРТ або рентгенівської комп'ютерної томографії (КТ) органу зі злоякісною пухлиною пацієнта.

2.4. Індукційна помірна гіпертермія з постійним магнітним полем, магнітними наночастинками та радіологічна візуалізація фантома грудної залози

2.4.1. Опис конструкції розробленого фантома грудної залози

Фантом грудної залози було розроблено для візуалізації впливу ПМП на розподіл МНЧ та біомеханічні властивості злоякісних клітин. В основу винаходу було поставлено задачу створити систему для досліджень у шарах фантома грудної залози, що складається із фантома грудної залози, виконаного у вигляді півсфери, накритої поліетиленовою кришкою; усередині фантома розміщено капіляр із тканинноеквівалентного матеріалу, в якому було розміщено волоконно-оптичний датчик температури, суспензію злоякісних клітин із МНК і поживним середовищем; знизу під півсферою, розташованою у петлі основного аплікатора, було розміщено постійний магніт, що надавало можливість персоналізувати прогноз протипухлинного ефекту дії МНЧ під час ІПГ. Застосування основного аплікатора у формі петлі, що випромінював не лише змінну електричну, а і магнітну компоненту, разом з полем постійного магніту дозволяло концентрувати ЕМП переважно в об'ємі шарів фантома, генеруючи вихрові й спін-струми у МНЧ, та ініціювати магніто-механохімічний ефект у злоякісних клітинах з утворенням високореактивних окисних продуктів. Комбінований тепловий і магніто-механохімічний ефекти внаслідок окисного стресу викликали порушення

цілісності біологічних мембран та органел злоякісних клітин, що знижувало життєздатність останніх у середовищі капіляра. Температура злоякісних клітин у середовищі контролювалася цифровим термометром із волоконно-оптичним датчиком ТМ-4 (Радмір, Україна). Запропонована конструкція забезпечує планування ІПГ злоякісних пухлин грудної залози та сприяє підвищенню ефективності комбінованої протипухлинної терапії завдяки тепловим та магніто-механохімічним ефектам, підбору розміру та форми фантома відповідно до антропометричних параметрів пацієнтки. Використання розробленого фантома грудної залози рекомендовано на базі попередньо отриманих медичних зображень РЦТ, УЗД, МРТ або КТ грудної залози пацієнтки з пухлиною, далі будують її тривимірне зображення з фіксацією віртуального місця розташування патологічного процесу. Потім відтворюють із поліетилену на 3D-принтері форму півсфери фантома відповідно до побудованої раніше тривимірної моделі грудної залози пацієнтки [199].

24 г порошку желатину («Мрія», Україна) повільно додавали в мірний стакан з 96 мл 0,9% NaCl («Нікофарм», Україна). Суміш поміщали у водяну баню при 50 °С з подальшим перемішуванням для видалення бульбашок повітря. Остаточний об'єм 120 мл переливали в контейнер, що за формою імітував грудну залозу (поліетиленова півсфера радіусом 40 мм), і охолоджували протягом 12 годин за кімнатної температури.

На рис. 2.6 показано фотографію, схему, КТ-скан та сонограму розробленого фантома грудної залози, що складався з півсфери (1), об'єм якої обирають відповідно до антропометричних параметрів грудної залози пацієнтки; зверху фантом накрито поліетиленовою кришкою (7), через яку всередині фантома було розміщено капіляр (8) з тканинноквівалентного матеріалу для імітації тканини грудної залози, в якому було розташовано волоконно-оптичний датчик температури (9), поживне середовище (3) і суспензію злоякісних клітин (10) з МНЧ (11). Датчик (9) підключено до вимірювача температури (6). Фантом розміщено у виконаному у формі петлі основному аплікаторі (4), який пов'язаний із високочастотним генератором (5). Знизу фантома розміщено постійний магніт (12).

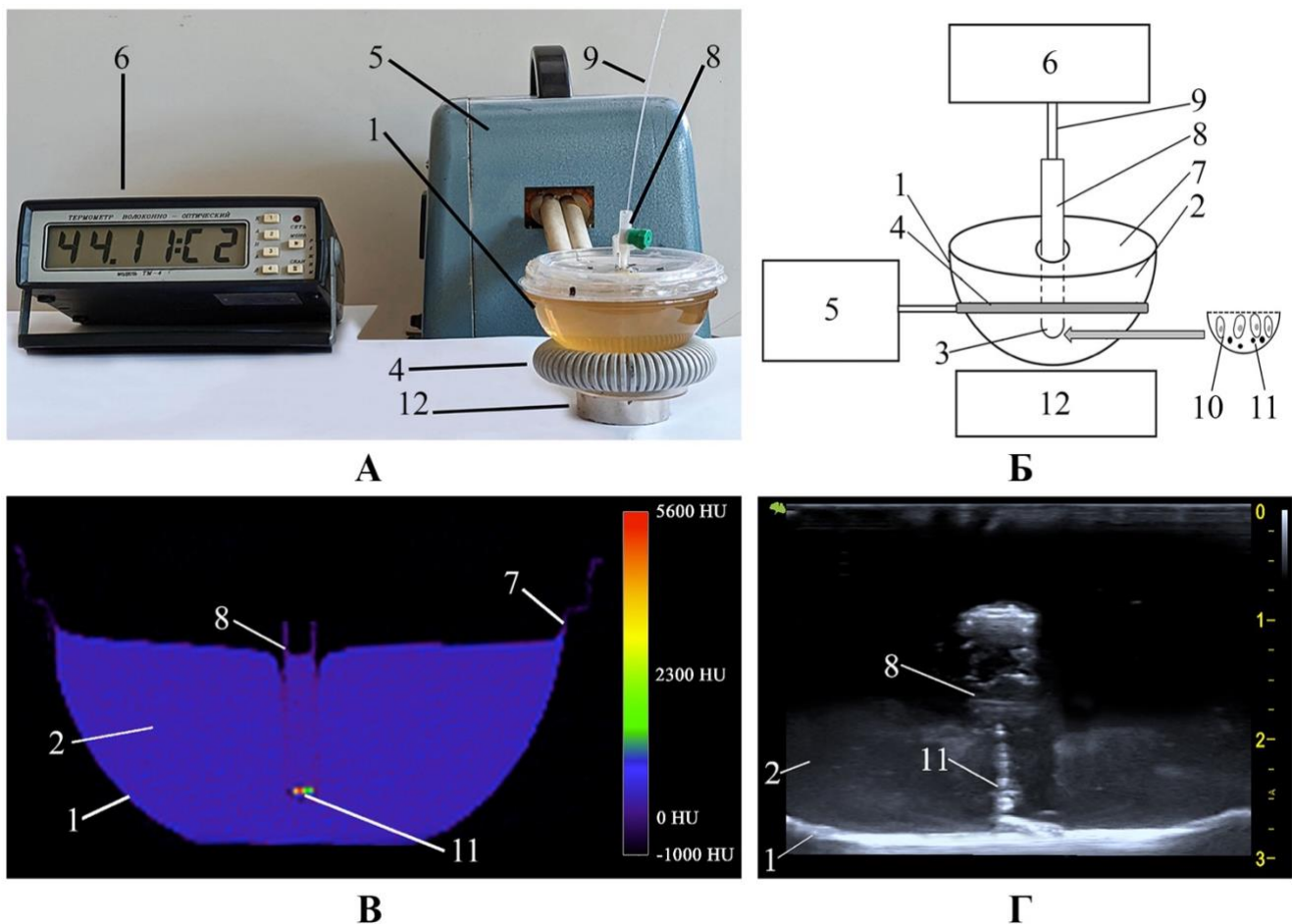


Рис. 2.6. Загальний вигляд (А), схема (Б), коронарний КТ-зріз (В) та сонограма у В-режимі (Г) фантома грудної залози: 1 – поліетиленовий контейнер; 2 – тканина-імітація грудної залози; 3 – середовище DMEM; 4 – аплікатор; 5 – високочастотний генератор; 6 – пристрій для вимірювання температури; 7 – кришка; 8 – капіляр; 9 – волоконно-оптичний датчик температури; 10 – клітини MCF-7; 11 – МНЧ; 12 – постійний магніт.

Зону інтересу пухлини представлено капіляром, заповненим клітинами інвазивної протокової аденокарциноми грудної залози людини MCF-7 у середовищі Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Sigma, США), для імітації злоякісного кістозного утворення. Складні кістозні утворення грудної залози, що мають товсті стінки, товсті перегородки або містять як кістозні, так і солідні компоненти, виявляються злоякісними при біопсії у 20–30% пацієнток з раком грудної залози [227]. Клітинна лінія MCF-7 була обрана тому що вона є широко використовуваною *in vitro* моделлю, яка характеризується резистентністю до

нагріву порівняно з іншими клітинними лініями злоякісних пухлин грудної залози людини [194] [228].

КТ-зображення ($n = 350$) отримували при скануванні фантома на комп'ютерному томографі SOMATOM go.Top (Siemens Healthineers, Німеччина) за стандартним протоколом дослідження грудної клітки дорослої людини: 70 кВп; 216 мАс; товщина зрізу 0,8 мм; поле зору (FOV) 50 см; матриця реконструкції 512×512; добуток поглиненої дози на довжину сканування (DLP) 2,09 мГр·см. Вимірювання значення одиниць Хаунсфілда (HU) на КТ-сканах у зоні інтересу тканини грудної залози та пухлини виконували з допомогою програмного забезпечення Horos 4.0 (Horos Project, Швейцарія) згідно з **формулою 2.4** [229].

$$HU = 1000 \times \left(\frac{\mu_x - \mu_{\text{води}}}{\mu_{\text{води}}} \right), \quad (2.4)$$

де μ_x – коефіцієнт ослаблення рентгенівського випромінювання у тканині;
 $\mu_{\text{води}}$ – коефіцієнт ослаблення рентгенівського випромінювання у воді.

Визначення модуля пружності Юнга (E) за **формулою 2.5** [230] проводили методом зсувнихвильової УЗЕ з використанням лінійного датчика Х4-12L з частотою 6–12 МГц при механічному індексі (MI) 1,6 та тепловому індексі для м'яких тканин (TIS) 0,3 (**формули 2.6 та 2.7** [231]) на сканері експертного класу Vinno G86 (Vinno Technology, КНР).

$$E = 3\rho c^2, \quad (2.5)$$

де ρ – густина тканини; c – швидкість поширення зсувної хвилі;

$$MI = \frac{P_r \alpha}{\sqrt{f}}, \quad (2.6)$$

де P_r – розрахунковий піковий розріджувальний тиск; α – коефіцієнт ослаблення ультразвуку середовищем; f – центральна частота під час сканування;

$$TIS = \frac{P_0}{P_{deg}}, \quad (2.7)$$

де P_0 – потужність ультразвуку при скануванні; P_{deg} – потужність ультразвуку необхідна для підвищення температури однорідної тканини на 1 °С.

Параметри розробленого фантома (табл. 2.2) відповідали за рентген-щільністю та модулем пружності Юнга тканині грудної залози і кістозної злроякісної пухлини грудної залози згідно з роботами [232], [233]. Додавання МНЧ в зону інтересу пухлини збільшувало значення HU і модуля Юнга ($p < 0,05$).

Таблиця 2.2

Параметри розробленого фантома грудної залози, $M \pm m$

Зона інтересу	Рентген-щільність, HU	Модуль Юнга, кПа
Тканина-імітація грудної залози	$78,84 \pm 0,46$	$18,44 \pm 2,20$
Пухлина	$45,33 \pm 4,63^*$	$40,16 \pm 1,71^*$
Пухлина + МНЧ	$3345,57 \pm 290,41^{* \#}$	$181,05 \pm 16,05^{* \#}$

* Статистично значуща різниця при порівнянні з зоною інтересу тканини-імітації грудної залози, $p < 0,05$;

статистично значуща різниця при порівнянні з зоною інтересу пухлини, $p < 0,05$.

2.4.2. Магнітне націлювання магнітних наночастинок

Для формування кластерів МНЧ і впливу на жорсткість зони інтересу пухлини з клітинами MCF-7, застосовували неодимовий ($Nd_2Fe_{14}B$) постійний магніт, обраний з попередньої роботи [221], який фіксували під зоною інтересу пухлини таким чином, щоб збігалися центри між магнітом і основою фантома грудної залози (рис. 2.6, А і Б). Магніт прикладали північним полюсом до клітин згідно з роботою [234]. Основні параметри постійного магніту наведено у табл. 2.3 [235]. Розподіл магнітної індукції (рис. 2.7, А) будували на основі вимірювань датчика Холла, а розподіл магнітної сили, що діяла на одну МНЧ, (рис. 2.7, Б), будували згідно з роботою [224] у програмному продукті COMSOL Multiphysics (Burlington, США) v. 5.6. Неоднорідність прикладеного магнітного поля вимірювали методом коефіцієнта варіації [225], розраховуючи дисперсію магнітної

індукції у просторі відносно її середнього значення. Магнітне поле, ініційоване постійним магнітом, мало вищий ступінь неоднорідності в межах <10 мм від центра магніту, ніж на більшій відстані, де поле було слабшим [235].

Таблиця 2.3

Основні параметри постійного магніту

Діаметр, мм	Товщина, мм	Магнітна індукція, Тл		Неоднорідність,%		Магнітна сила, пН
		Відстань від центра магніту				
45	15	< 30 мм	> 30 мм	< 30 мм	> 30 мм	0,001–255,28
		0,017–0,506	< 0,017	78,83	70,57	

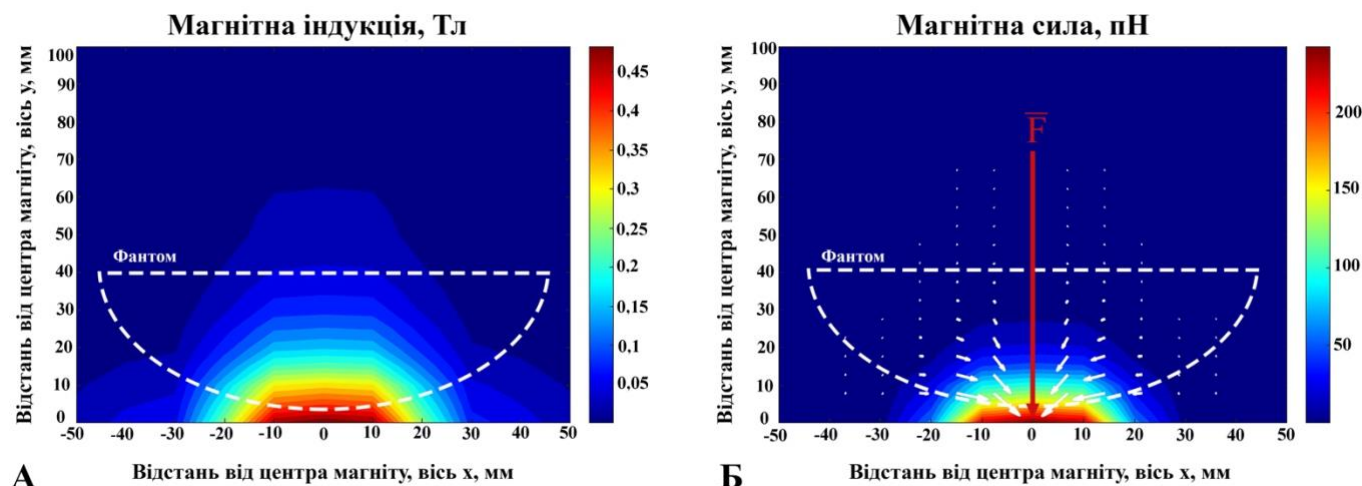


Рис. 2.7. Розподіл магнітної індукції (А) та магнітної сили (Б), що діяла на одну МНЧ діаметром 50 нм у клітинах MCF-7 під час впливу ПМП (білі стрілки вказують векторне поле градієнта сили).

2.4.3. Електромагнітне опромінення з магнітними наночастинками

Джерелом ЕМП для ІПГ тривалістю 30 хвилин слугував експериментальний прототип апарату «Магнітерм» (Радмір, Україна) з аплікатором, підключеним до високочастотного генератора (частота 42 МГц, вихідна потужність 10 Вт). Вибір частоти було зумовлено необхідністю обмеження нагріву постійного магніту внаслідок зменшення глибини проникнення ЕМП у матеріал магніту зі збільшенням частоти (скін-ефект) [193] та при цьому ініціації нагріву у

біологічному середовищі у результаті іонної провідності та діелектричної релаксації полярних молекул [236]. Температура, виміряна на поверхні постійного магніту, не перевищувала 30 °С. Теплоізоляція аплікатора запобігала виникненню поверхневих гарячих точок з мінімальними радіочастотними перешкодами. Планування впливу ІПГ у фантомі грудної залози здійснювалося з допомогою програмного продукту COMSOL Multiphysics (Burlington, США) v. 5.6. з використанням модулів AC/DC Module та Heat Transfer Module на основі робіт [4], [237]. На **рис. 2.8** показано розподіл питомого коефіцієнта поглинання електромагнітної енергії (SAR) у фантомі грудної залози на 30-й хвилині впливу ІПГ без (**рис. 2.8, А**) та з МНЧ (**рис. 2.8, Б**) у зоні інтересу пухлини.

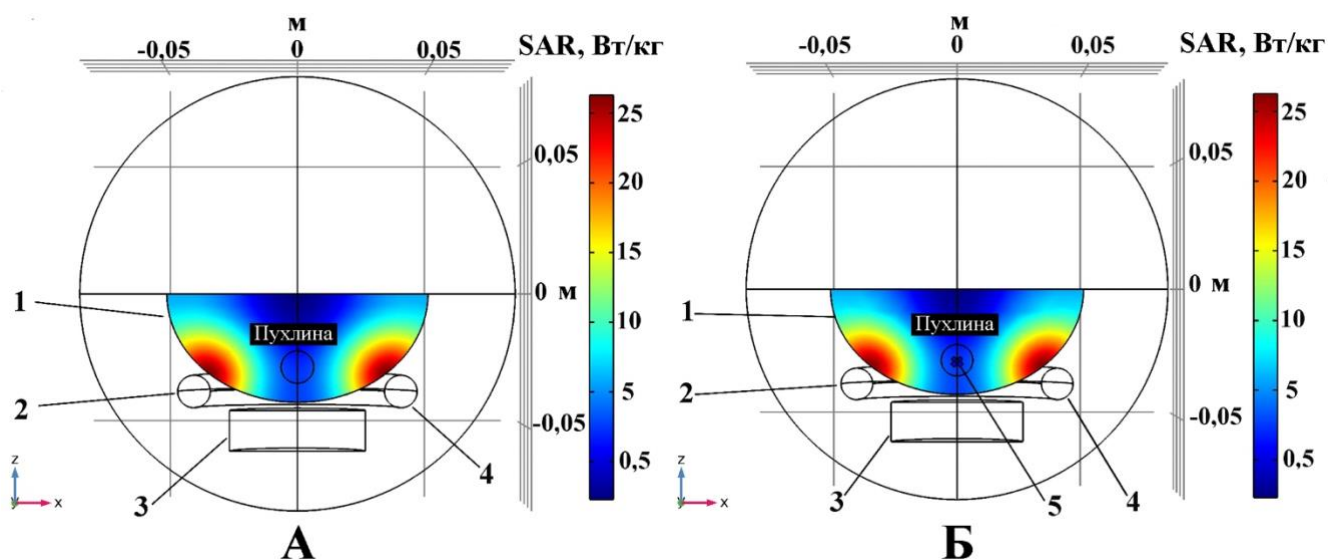


Рис. 2.8. Розподіл питомого коефіцієнта поглинання електромагнітної енергії (SAR) у фантомі грудної залози на 30-й хвилині впливу ІПГ без (А) та з МНЧ (Б): 1 – півсфера фантома грудної залози; 2, 4 – петля аплікатора; 3 – постійний магніт; 5 – МНЧ.

У **табл. 2.4** наведено максимальні значення SAR (Вт/кг) і температури (°С). Основним параметром ІПГ є максимальне значення температури (≤ 42 °С), що досягалося під час опромінення. За вищих температур (> 42 °С) очікуються побічні ефекти, наприклад, експресія білків теплового шоку, що призводить до хіміорезистентності та непереносимості тепла у пацієнтів. Для даної моделі

кластери МНЧ були сформовані у вигляді комбінації прямокутних трикутників, повернених під кутом 45 градусів і об'єднаних в єдину геометрію [235].

Таблиця 2.4

Максимальні значення параметрів електромагнітного опромінення та температур у зоні інтересу пухлини фантома грудної залози

Вплив	SAR, Вт/кг	T, °C
ПМП + ІПГ	8,03	40,56
МНЧ + ПМП + ІПГ	8,48	40,77

2.4.4. Клітини MCF-7

Клітини аденокарциноми грудної залози людини MCF-7 отримані з навчально-наукового центру "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка культивували у середовищі DMEM (Sigma, США) з 10% бичачої сироватки (Sigma, США), 2 мМ L-глутаміну (Sigma, США) і 40 мкг/мл гентаміцину сульфату (Біофарма, Україна) за стандартних умов (37 °C, 5% CO₂ і 100% вологості, MM Medcenter Einrichtungen GmbH, Німеччина). Клітини трипсинізували та суспендували в загальному об'ємі 0,5 мл DMEM і 9 мг/мл NaCl при конфлюентності 80–90%. Кінцева концентрація клітин становила 50×10^5 в 0,5 мл. Потім клітини MCF-7 у фантомі зазнавали впливу ПМП + ІПГ, або МНЧ + ПМП + ІПГ протягом 30 хв. В усіх експериментах до клітин додавали МНЧ у концентрації 0,2 мг/мл згідно з [238]. Зміни pH унаслідок впливу визначали додатково з допомогою портативного pH-метра OHAUS ST20 (Пайн Брук, США). Життєздатність клітин MCF-7 оцінювали з допомогою 0,4% розчину трипанового синього, розведеного в 0,1 М фосфатно-буферному розчині при pH 7,2 використовуючи спектрофотометр Labsystem Multiscan MS (Thermo Fisher Scientific, Корея) та інвертований мікроскоп AxioVert (Carl Zeiss, Німеччина). Трипановий синій мав здатність до накопичення тільки в клітинах з підвищеною проникністю і порушеною цілісністю мембрани [239]. Кількість життєздатних і нежиттєздатних клітин підраховували у камері Горяєва.

2.4.5. Текстурний аналіз медичних зображень фантома грудної залози

Комп'ютерний аналіз кластерів МНЧ у зоні інтересу пухлини проводили на основі зображень ($n = 40$ зображень для кожного експерименту) РЦТ, отриманих з допомогою мамографічної системи експертного класу Giotto Class 30000 (IMS Giotto, Італія). Візуалізація методом РЦТ була обґрунтована високою роздільною здатністю (100–280 мкм), порівняно з УЗД (0,3–1 мм) і МРТ (~ 1 мм), значною різницею між рентген-щільністю МНЧ та середовища клітин і можливістю пошарового аналізу їхнього розподілу у зоні інтересу пухлини фантома. Мамографія з РЦТ – основний радіологічний метод дослідження грудної залози у жінок віком від 40 років з типом щільності a, b, c згідно з Breast Imaging Reporting & Data System (BI-RADS, American College of Radiology), що у подальшому пришвидшує трансляцію персоналізованої візуалізації розподілу кластерів МНЧ у біологічних тканинах [240], [241], [242].

Зміни жорсткості зони інтересу пухлини під впливом МНЧ і ПМП досліджували шляхом вимірювання модуля Юнга методом УЗЕ ($n = 300$ зображень) з допомогою сканера Vinno G86 з лінійним датчиком X4-12L (Vinno Technology, КНР). Спочатку фантом візуалізували у *B*-режимі, а потім обирали зони інтересу на еластограмах. Вплив МНЧ на температуру при ІПГ вимірювали цифровим термометром з волоконно-оптичним датчиком ТМ-4 (Радмір, Україна) розміщеним у зоні інтересу пухлини фантома. Основні параметри візуалізації наведено у **табл. 2.5**.

Основні параметри візуалізації фантома

Параметр	Значення
Рентгенівський цифровий томосинтез	
$U_{\text{анод}}$, кВ	23
$I_{\text{анод}} \times \text{час експозиції}$, мАс	30
Матеріал аноду	W
Товщина Al фільтру, мм	0,7
Компресія, Н	40
Товщина зрізу, мм	1
Середня поглинена доза, мГр ($M \pm m$)	$0,24 \pm 0,004$
Ультразвукова еластографія	
Частота, МГц	6–12
Механічний індекс (MI)	1,6
Тепловий індекс (TIS)	0,3

Для кількісної характеристики змін у формуванні кластерів МНЧ розраховували текстурні параметри: фрактальну розмірність, лакунарність, щільність пікселів та округлість з допомогою плагіна FracLac у програмному продукті ImageJ 1.53k (NIH, США) [243]. Алгоритм текстурного аналізу РЦТ-зображень наведено на **рис. 2.9**. Фрактальна розмірність визначала ступінь самоподібності на зображенні, тоді як лакунарність слугувала мірою гетерогенності розподілу МНЧ [244], [245]. Зони інтересу однакового розміру включали просвіт капіляра на РЦТ-зображеннях (**рис. 2.9, А**). Вирізані зображення конвертували у 8-бітну шкалу сірого, сегментували методом максимальної ентропії (**рис. 2.9, Б**), після чого розраховували фрактальну розмірність (D_B) і лакунарність (Λ) методом розрахунку блоків (box counting) (**рис. 2.9, В та Г**) з основними параметрами сітки (grid), вказаними у **табл. 2.6**, за **формулами 2.8 та 2.9**. Щільність пікселів (PD) та округлість (C) визначали методом Convex hull шляхом побудови опуклого багатокутника – з'єднаної серії прямих відрізків, що опукло охоплюють усі пікселі МНЧ кластерів на зображенні (**формули 2.10 та 2.11**) [246].

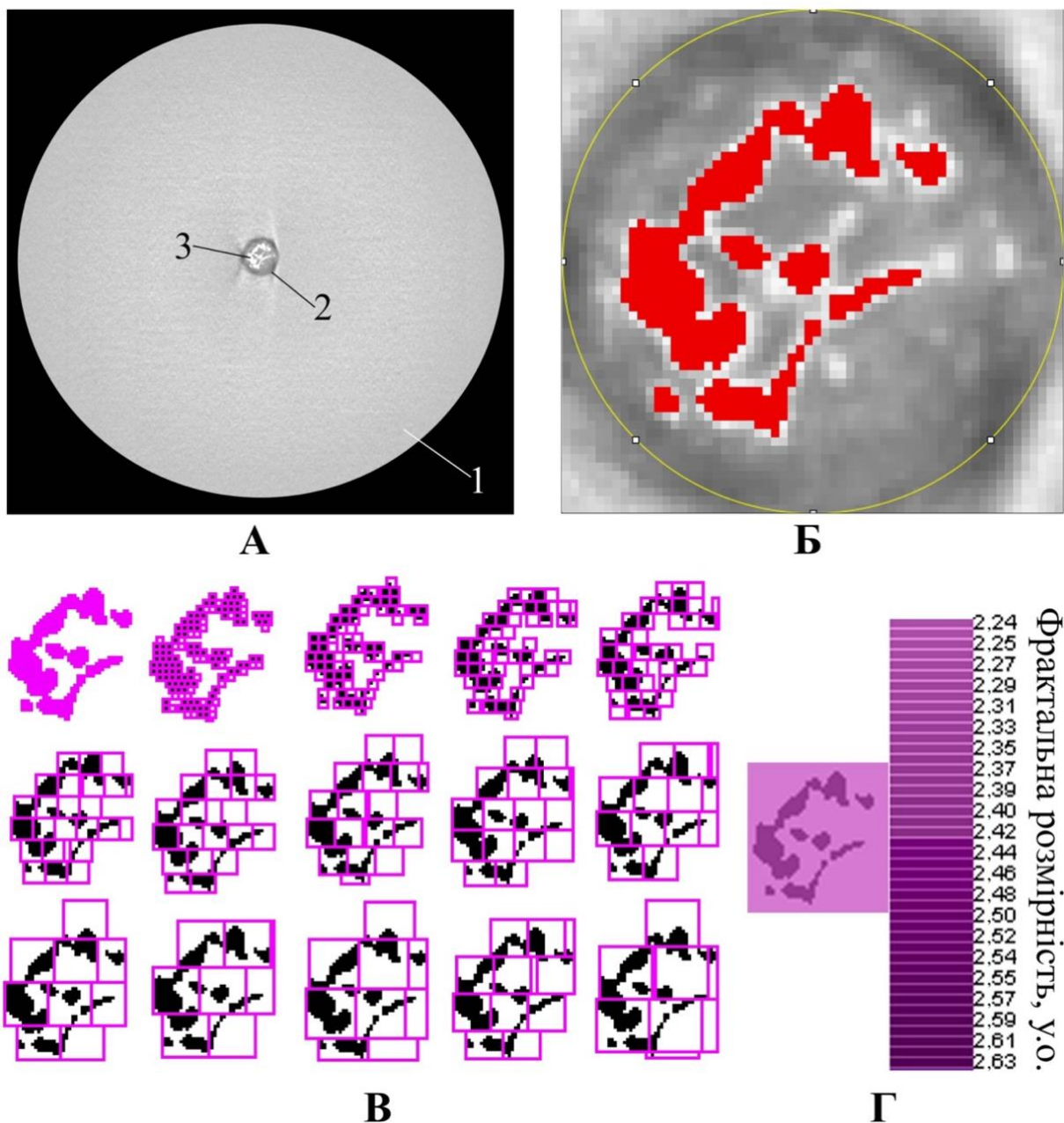


Рис. 2.9. Алгоритм текстурного аналізу РЦТ-зображень фантома.

Конвертація рентгенівського зображення фантома у конвенційний формат: 1 – зона інтересу тканини-імітації грудної залози; 2 – зона інтересу пухлини; 3 – МНЧ (А); сегментація МНЧ (червоним кольором) у зоні інтересу пухлини на зображенні фантома методом максимальної ентропії (Б); розрахунок фрактальної розмірності та лакуарності методом box counting з розміром блоку від 1 пікселя (лівий верхній кут) до 45% (правий нижній кут) (В); розрахунок середнього значення текстурного параметра кластерів МНЧ (Г).

Основні параметри сітки для визначення фрактальної розмірності та лакуарності РЦТ-зображень фантома

Параметр	Значення
Число блоків (G)	60
Кількість розмірів	100
Мінімальний розмір блоку	1 піксель
Максимальний розмір блоку	45% зображення
Максимальна кількість зрізів	12

$$\overline{D_B} = \sum_{G=1}^{Grids} D_{B(G)} \times Grids^{-1}, \quad (2.8)$$

де $\overline{D_B}$ – середнє значення фрактальної розмірності; $Grids$ – число блоків у сітці;

$$\Lambda_{\varepsilon,g} = \left(\frac{\sigma}{\mu}\right)_{\varepsilon,g}^2, \quad (2.9)$$

де σ – стандартне відхилення кількості пікселів у блоці; μ – середня кількість пікселів у блоці при орієнтації g та розмірах ε ;

$$PD = \frac{N}{S}, \quad (2.10)$$

де N – кількість пікселів у кластерах МНЧ; S – площа опуклого багатокутника, що обмежує кластери МНЧ;

$$C = \frac{4\pi S}{P^2}, \quad (2.11)$$

де S – площа та P – периметр опуклого багатокутника, що обмежує кластери МНЧ.

2.5. Індукційна помірна гіпертермія з постійним магнітним полем і магнітними наночастинками та радіологічна візуалізація експериментальної моделі злоякісної пухлини

2.5.1. Експериментальні тварини та перещеплення пухлинних клітин

За експериментальну модель злоякісної пухлини використовували карциносаркому Уокер-256, що характеризується швидким ростом та ознаками як карциноми, так і саркоми, широко вивчена і валідована для індукції пухлинного росту у піддослідних тварин. Її використовують у дослідженнях пухлин грудної

залози, кісток та деяких інших злоякісних новоутворень. Кінетика росту цієї пухлини передбачала три стадії: ініціацію, промоцію і прогресію протягом короткого періоду 12–16 діб. Зростання пухлини відбувалося за кінетикою першого порядку між 7-мою і 13-тою добою після перещеплення з середньою константою швидкості 34,3% на добу для пухлин великого розміру і 27,7% на добу для малих пухлин. Ріст пухлини підпорядковувався експоненціальній кривій росту [195], [196], [226], [247]. З огляду на вищевказані особливості кінетики росту, визначення біомеханічних параметрів пухлини методом УЗЕ та морфологічних характеристик проводили під час фази експоненціального росту до 9-тої доби після перещеплення, оскільки протягом цього проміжку часу реєструвалося виражене збільшення об'єму карциносаркоми Уокер-256. Варто зауважити, що найбільш поширеними стадіями при встановленні діагнозу раку грудної залози у жінок виявляються I–II з розміром злоякісних пухлин до 5 см за класифікацією TNM 8 [248], [249]. Виходячи з того, що карциносаркома Уокер-256 досягала близького до граничного значення розміру на 20-ту добу після перещеплення, для об'єктивної кількісної оцінки протипухлинного ефекту терапії проводили МРТ-візуалізацію та ЕПР-спектроскопію пухлини на 18-ту добу під час термінальної фази росту, коли спостерігався найвищий рівень вільного заліза у пухлині [250]. Перещеплення пухлини проводили клітинами карциносаркоми Уокер-256 з клітинного банку ліній тканин людини і тварин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (2×10^6 клітин у середовищі 199) у праву задню кінцівку лабораторних тварин.

Спершу, вивчали вплив ПМП із застосуванням магнітно-дипольного апплікатора [201], який складався з дипольного вузла та постійного магніту $\text{Nd}_2\text{Fe}_{14}\text{B}$ (табл. 2.3) [251], з МНЧ на самках неінбредних щурів масою тіла $160,5 \pm 2,1$ г з карциносаркомою Уокер-256 (віварій ДНП «Національний інститут раку», Україна). Тварин рандомізовано розподілили на три групи ($n = 6$): (1) контрольна група пухлиноносіїв без впливу; (2) група, яку піддавали впливу МНЧ; (3) група, яку піддавали впливу МНЧ + ПМП. МНЧ Fe_3O_4 (0,5 мг) вводили разом з пухлинними клітинами під час перещеплення. Щурам 3-ї групи проводили

експозицію ПМП через день (загалом 5 разів). Тварин поміщали в положення лежачи на 80 хв з інгаляцією 1–2% ізофлурану під час впливу ПМП. Голову тварин орієнтували на північний магнітний полюс Землі, постійний магніт прикладали до пухлини північним полюсом, спираючись на роботи [234], [252], [253].

Другий крок полягав у дослідженні впливу ІПГ із застосуванням магнітно-дипольного аплікатора. Самок неінбредних щурів-пухлиноносіїв з масою тіла $123,4 \pm 7,9$ г (віварій ДНП «Національний інститут раку», Україна) рандомізовано розподілили на чотири групи ($n = 5$): (1) контрольна група пухлиноносіїв без впливу; (2) група, яка отримувала офіцинальний ДОКС; (3) група, яка отримувала МНК-ДОКС; (4) група, яка отримувала МНК-ДОКС і зазнавала впливу ІПГ з ПМП. У групах 2–4, тваринам вводили внутрішньовенно 1,5 мг/кг ДОКС або 3 мг/кг МНК $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$, навантаженого 1,5 мг/кг ДОКС, через добу, починаючи з 2-гої доби після перещеплення (всього 5 разів) [117], [254], [255], [256]. Перед початком впливу ІПГ з ПМП щурам 4-ї групи проводили інгаляційну анестезію 1–2% ізофлурану та іммобілізували їх. Після внутрішньовенного введення МНК-ДОКС тварин-пухлиноносіїв піддавали впливу ІПГ тривалістю 15 хвилин при частоті ЕМП 42 МГц, генерованої експериментальним прототипом апарату «Магнітерм» (Радмір, Україна), з використанням магнітно-дипольного аплікатора для цільової доставки МНК-ДОКС у пухлину. Магнітна сила, що діяла на МНК з діаметром 13 нм, варіювала від 0,75 пН до 293 пН на відстані до 30 мм від центра магніту [257]. Температура у пухлині не перевищувала 39 °С протягом 15-хвилинного електромагнітного опромінення за вимірами цифрового термометра з волоконно-оптичним датчиком ТМ-4 (Радмір, Україна), що підтримувало більш фізіологічні умови помірної гіпертермії [110].

Дизайн цього дослідження розроблено відповідно до рекомендацій, викладених у роботі [187], і схвалено біоетичним комітетом з питань захисту тварин та етики медичних досліджень ДНП «Національний інститут раку». Лабораторні тварини перебували в стандартних умовах віварію з природним режимом освітлення на повноцінному раціоні харчування. Усі процедури з

тваринами проводилися відповідно до Закону України № 3447-IV та Європейської директиви 2010/63/ЄС.

2.5.2. Опис конструкції застосованого магнітно-дипольного аплікатора для індукційної помірної гіпертермії з магнітними наночастинками

В основу застосування магнітно-дипольного аплікатора було поставлено задачу вдосконалення конструкції пристрою [258], [259], [260], [261] для індукційної помірної гіпертермії з метою персоналізації магніто-механохімічних ефектів МНЧ, навантажених хіміотерапевтичними агентами, у пухлині під впливом ПМП та ЕМП до клінічної трансляції у пацієнтів зі злоякісною пухлиною грудної залози та м'яких тканин. Шляхом модифікації конструкційних матеріалів, застосування диполів, виконаних з магніточутливого матеріалу, що розташовувались у неоднорідному магнітному полі постійного магніту з захисним кожухом, розміщення з зовнішньої сторони тримача у напрямній скривленої еліпсоїдної форми петльового аплікатора та використання позиційного фіксатора призводили до підвищення локалізації МНЧ у пухлині, збільшення градієнтів ПМП та ЕМП і відповідно асиметрії розподілу вихрових струмів. Це забезпечило ефективність локорегіонального протипухлинного ефекту ІПГ із використанням пристрою на основі [201].

Адаптований пристрій (рис. 2.10, 2.11) містив блок живлення (1), блок керування (2), тримач (4) з діамагнітного матеріалу, у середину якого було вставлено магнітно-дипольний аплікатор, що складався з захисного гумового кожуха (5), постійного магніту (6), петльового аплікатора (7), зв'язаного з високочастотним (ВЧ) генератором (3), дипольного вузла (8), виконаного з магніточутливого матеріалу та позиційного фіксатора на основі вакуумної присоски (9), який розміщували на поверхні фіксаційного контейнера (12) у проекції пухлини (10) лабораторної тварини. Просторова форма і розміри аплікатора (7) задавалися з допомогою розміру та форми напрямної скривленої еліпсоїдної форми, вирахованої з використанням комп'ютерного планування на основі медичного зображення просторової форми та розміру пухлини (10)

лабораторної тварини, розміщеної у контейнері для фіксації (12) на позиційному столі (13).

Поставлена задача вирішувалась тим, що в пристрої для магнітної нанотерапії злоякісних пухлин використовувався магнітно-дипольний аплікатор, що складався з тримача та позиційного фіксатора, виконаних з діамагнітного матеріалу, усередину тримача було вставлено локалізатор у формі диполів, виконаних з магніточутливого матеріалу, що знаходились у магнітному полі постійного магніту з захисним кожухом, а з зовнішньої сторони було розміщено петльовий аплікатор змінної форми, що дозволяло персоналізовано регулювати розмір і форму для опромінення всієї пухлини. Крім того, більш виражене нагрівання спостерігалось поруч з аплікатором при ІПГ, а не в центрі його петлі [262], що корисно для впливу на життєздатні та проліферуючі клітини, розташовані переважно на периферії пухлини [263]. Комп'ютерне планування ІПГ у програмному продукті COMSOL Multiphysics (Burlington, США) v. 5.6. показало, що застосування магнітно-дипольного аплікатора дозволяло підвищити SAR в пухлині у 2,5 раза порівняно з відомим петльовим аплікатором, при цьому максимальна температура на 15-ій хвилині не перевищувала 39 °C, а на 30-ій хвилині – 40 °C, забезпечуючи помірний нагрів за більш фізіологічних умов (**табл. 2.7**) [264], [265], [266], [267]. У попередній роботі [221] було показано, що самостійний вплив неодимового магніту без магнітно-дипольного аплікатора на МНЧ Fe_3O_4 створював магнітну силу ≤ 120 пН, що ініціювала підвищення рівня вільного заліза та супероксидного радикала, зниження рівня лактоферину та NO-FeS-білків, ріст та морфологічну гетерогенність карциносаркоми Уокер-256 порівняно з тваринами-пухлиноносіями, які отримували тільки МНЧ.

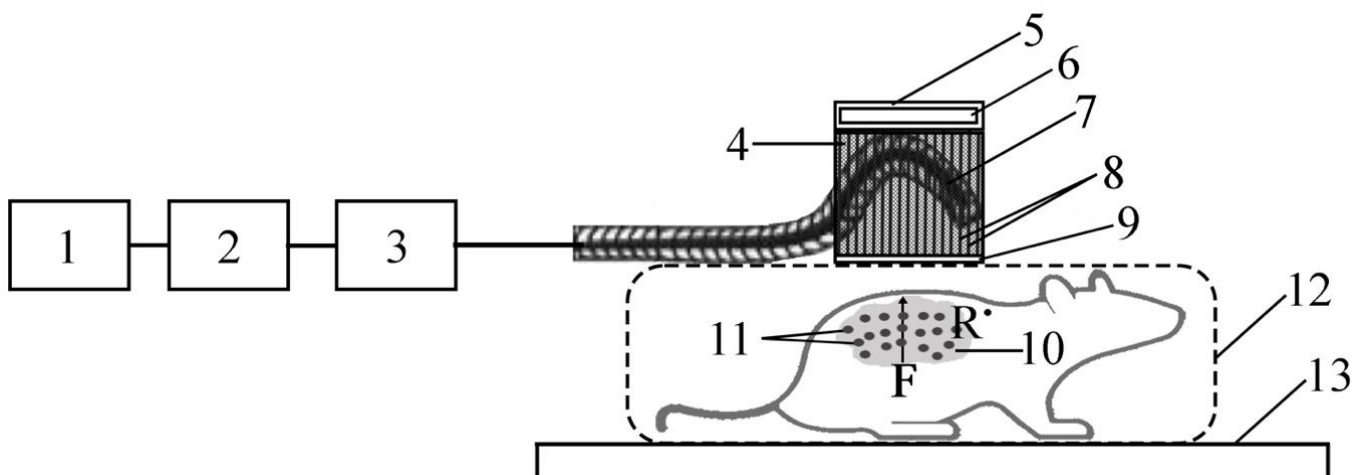


Рис. 2.10. Схема пристрою для магнітної нанотерапії злоякісних пухлин:

1 – блок живлення; 2 – блок керування; 3 – генератор ВЧ; магнітно-дипольний аплікатор (4 – тримач; 5 – захисний кожух; 6 – постійний магніт; 7 – петльовий аплікатор; 8 – дипольний вузол; 9 – позиційний фіксатор); 10 – злоякісна пухлина; 11 – МНЧ; 12 – контейнер для фіксації лабораторних тварин; 13 – позиційний стіл; F – магнітна сила, що діяла на МНЧ; R^\bullet – вільний радикал, ініційований магніто-механохімічним ефектом МНЧ під впливом ПМП та ЕМП.

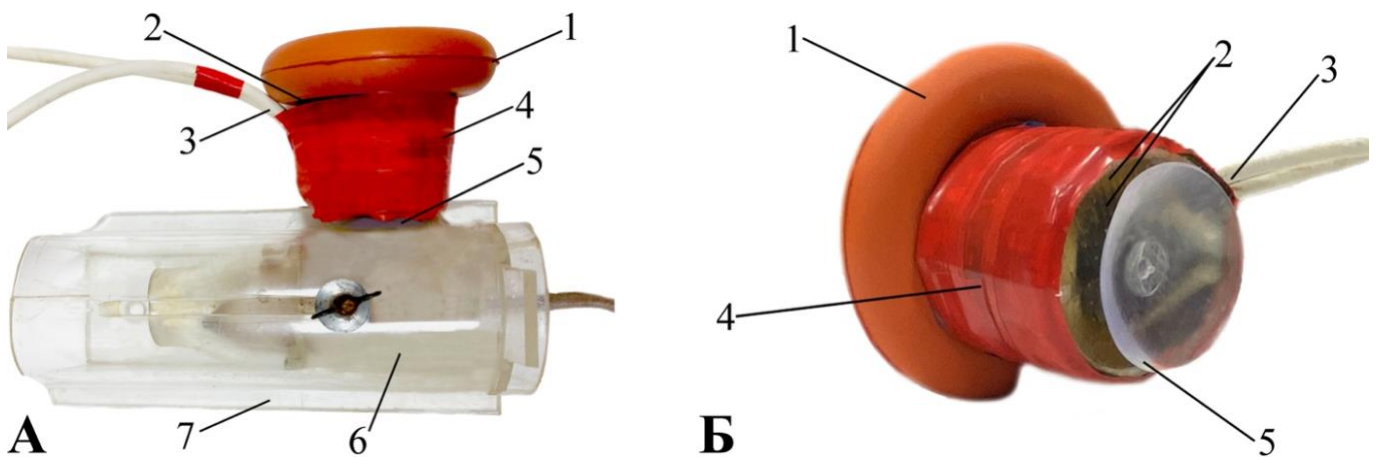


Рис. 2.11. Зовнішній вигляд магнітно-дипольного аплікатору.

Експериментальна установка, вид зверху (А) та збоку (Б): 1 – захисний кожух з постійним магнітом усередині; 2 – магніточутливі диполі; 3 – петльовий аплікатор; 4 – діамагнітний тримач; 5 – позиційний фіксатор; 6 – неінбредний щур зі злоякісною пухлиною; 7 – контейнер для фіксації лабораторних тварин.

**Максимальні значення параметрів електромагнітного опромінення у пухлині
під час впливу ІПГ з магнітно-дипольним аплікатором**

Параметр	Петльовий аплікатор	Магнітно-дипольний аплікатор
15-та хвилина		
SAR, Вт/кг	1,60	3,93
T, °C	37,59	38,66
30-та хвилина		
SAR, Вт/кг	2,63	6,74
T, °C	38,06	39,96

Принцип роботи аплікатора засновано на магніто-механохімічному ефекті внаслідок підвищення градієнта постійного магнітного поля в пухлині, що збільшувало дію магнітної сили та сили Лоренца (**формула 2.3**), яка діяла на МНЧ. Згідно з роботою [268], інтенсивність I і тиск p механічних хвиль, що створювались однією МНЧ об'ємом V , радіусом R , намагніченістю M , стаціонарною швидкістю v_{stat} під впливом ПМП μH_{DC} та ЕМП з частотою f і градієнтом поля $\nabla B(t)$ у біологічному середовищі з в'язкістю η , описуються **формулами 2.13–2.15**. Механічні хвилі, генеровані впливом електромагнітного опромінення на МНЧ, і трансформація пружної енергії у злоякісних клітинах ініціювали збудження в механічно індукованих окисно-відновних реакціях [269]. У подальшому розвитку і вдосконаленні конструкція запропонованого пристрою [201] для магнітної нанотерапії була застосована в розробці аплікатора для магнітно-резонансної нанотерапії злоякісних новоутворень у пацієнтів [270].

$$v_{stat} = \frac{VM\nabla B_{max}}{6\pi\eta R}, \quad (2.13)$$

$$I = v_{stat}^2 \cdot \rho_{medium} \cdot S, \quad (2.14)$$

$$p = v_{stat} \cdot \rho_{medium} \cdot S, \quad (2.15)$$

де V – об'єм МНЧ; R – радіус МНЧ; M – намагніченість МНЧ; ∇B_{max} – максимальний градієнт магнітного поля; η – в'язкість біологічного середовища; ρ_{medium} – густина біологічного середовища; s – швидкість поширення механічної хвилі у середовищі.

2.5.3. Нелінійна кінетика росту карциносаркоми Уокер-256

Після пальпації пухлини, з допомогою цифрового штангенциркуля вимірювали її довжину (L), ширину (W) та висоту (H). Об'єм пухлини оцінювали, припускаючи, що вона має форму еліпсоїда за **формулою 2.16** [271].

$$V = L \times W \times H \times \pi/6, \quad (2.16)$$

де L – довжина; W – ширина; H – висота пухлини.

Відмінності в нелінійній кінетиці росту пухлин між експериментальними групами вимірювали, зважаючи на роль вільних радикалів з використанням фактору росту φ згідно з автокаталітичним **рівнянням 2.17** [204].

$$dx/dt = \varphi(x + x_0)(1 - x), \quad (2.17)$$

де $x = (\Phi - \Phi_0)/(\Phi_\infty - \Phi_0)$ – відносний об'єм пухлини у момент часу t ; $x_0 = \Phi_0/(\Phi_\infty - \Phi_0)$ – відносний об'єм пухлини у момент часу $t = 0$; Φ_0 і Φ_∞ – початковий та лімітуючий об'єм пухлини відповідно; Φ – об'єм пухлини у момент часу t .

Протипухлинний вплив магнітної нанотерапії на нелінійну кінетику росту пухлин тварин оцінювали з допомогою коефіцієнта гальмування κ (**формула 2.18**).

$$\kappa = \frac{\varphi_c}{\varphi_e}, \quad (2.18)$$

де φ_c – фактор росту пухлин у контрольній групі тварин; φ_e – фактор росту пухлин в експериментальній групі тварин.

2.5.4. Ультразвукова еластографія тварин-пухлиноносіїв

З огляду на те, що у більшості солідних пухлин біомеханічні параметри відрізняються від оточуючих тканин [272], було використано метод зсувнохвильової УЗЕ [273] для оцінки жорсткості пухлинної тканини шляхом визначення модуля Юнга (пружності) карциносаркоми Уокер-256 з допомогою універсальної цифрової портативної системи експертного класу Soneus P7 з лінійним датчиком L234I (Ultrasign, Україна). Основні параметри УЗД-візуалізації наведено у **табл. 2.8**. Під час отримання УЗД-зображень тварин анестезували, як описано вище.

Таблиця 2.8

Основні параметри УЗД-візуалізації тварин-пухлиноносіїв

Параметр	Значення
Центральна частота, МГц	10
Механічний індекс (MI)	0,9
Тепловий індекс (TI)	0,4

Спочатку проводили візуалізацію карциносаркоми Уокер-256 у *B*-режимі та кольоровому доплерівському картуванні для радіологічної оцінки контурів, форми, структури, васкуляризації пухлини згідно з [274], а потім отримували еластограми і вимірювали модуль пружності Юнга у зоні інтересу пухлини (**рис. 2.12**) [275].

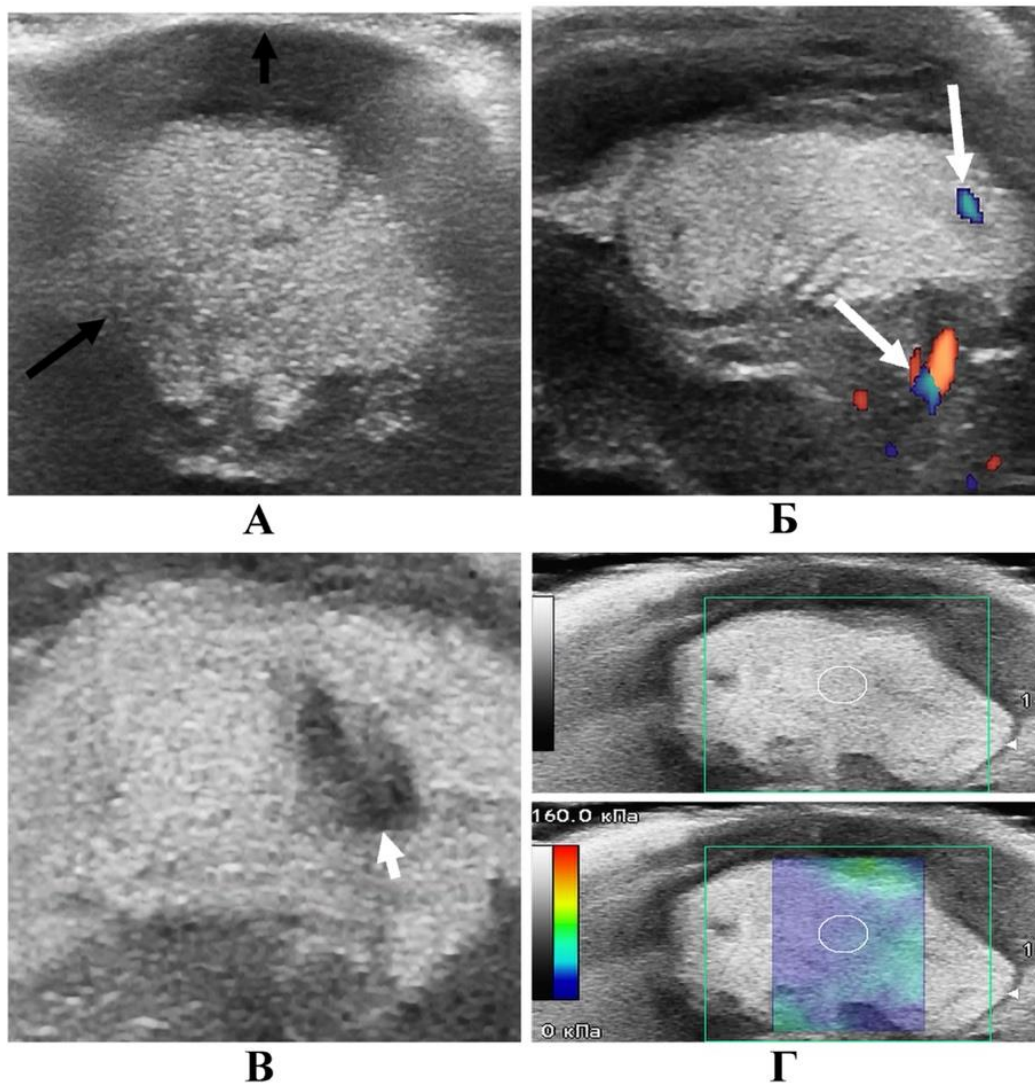


Рис. 2.12. Типові приклади якісних характеристик карциносаркоми Уокер-256 на УЗД-зображеннях тварин-пухлиноносіїв. Визначення пухлини на зображенні у В-режимі (А, В), кольоровому доплерівському картуванні (Б), вибір зони інтересу на еластограмі (Г): бугристі місцями нечіткі контури – довга чорна стрілка; ознаки компресії оточуючих тканин – коротка чорна стрілка; судинні сигнали по периферії та усередині пухлини – довгі білі стрілки; некротичні зміни – коротка біла стрілка.

2.5.5. Магнітно-резонансна томографія тварин-пухлиноносіїв

МРТ-дослідження проводили при напруженості магнітного поля 1,5 Тл і частоті 63,9 МГц (Intera, Philips, Нідерланди), що відповідало Ларморовій частоті (w_0) протона водню з **формули 2.19** [276], використовуючи 8-канальну колінну котушку (Sense Knee Coil, Philips).

$$w_0 = \gamma B_0, \quad (2.19)$$

де γ – гіромагнітне відношення протону водню; B_0 – напруженість постійного магнітного поля.

Тварин піддавали інгалаційній анестезії ізофлураном перед проведенням візуалізації ($n = 550$ зображень). Основні параметри отримання T_1 -зважених за часом спін-решітчастої релаксації та T_2 -зважених за часом спін-спінової релаксації протонів водню МРТ-зображень тварин-пухлиноносіїв наведено у **табл. 2.9**.

Таблиця 2.9

Основні параметри МРТ-візуалізації тварин-пухлиноносіїв

Параметр	T_1 -зважене зображення	T_2 -зважене зображення
Час повтору (TR), мс	500	3230
Час ехо (TE), мс	18	100
Кут перевероту (flip angle), °	90	90
Кількість усереднень сигналу	1	2
Матриця, піксель	412x279	240x191
Товщина зрізу, мм	2,5	2,5
Питомий коефіцієнт поглинання електромагнітної енергії (SAR), Вт/кг	2,9	2,9

Базуючись на роботах [203], [277], було проведено радіологічну оцінку МРТ-візуалізації (контурів, форми, структури, некротичних змін – зон інтересу з гіперінтенсивним гетерогенним сигналом на T_2 -зваженому зображенні (**рис. 2.13, А**) та гіпоінтенсивним сигналом на T_1 -зваженому зображенні (**рис. 2.13, Б**); перитуморального набряку – зон інтересу з гіперінтенсивним сигналом на T_2 -зважених зображеннях, притаманним для води, з нечіткими нерівними контурами (**рис. 2.13, В**), які різняться від видимих контурів пухлини; геморагій – зон інтересу з гіперінтенсивним сигналом на T_1 -зважених зображеннях,

не зіставним з сигналом від жирової тканини на інших МРТ-послідовностях (рис. 2.13, Г).

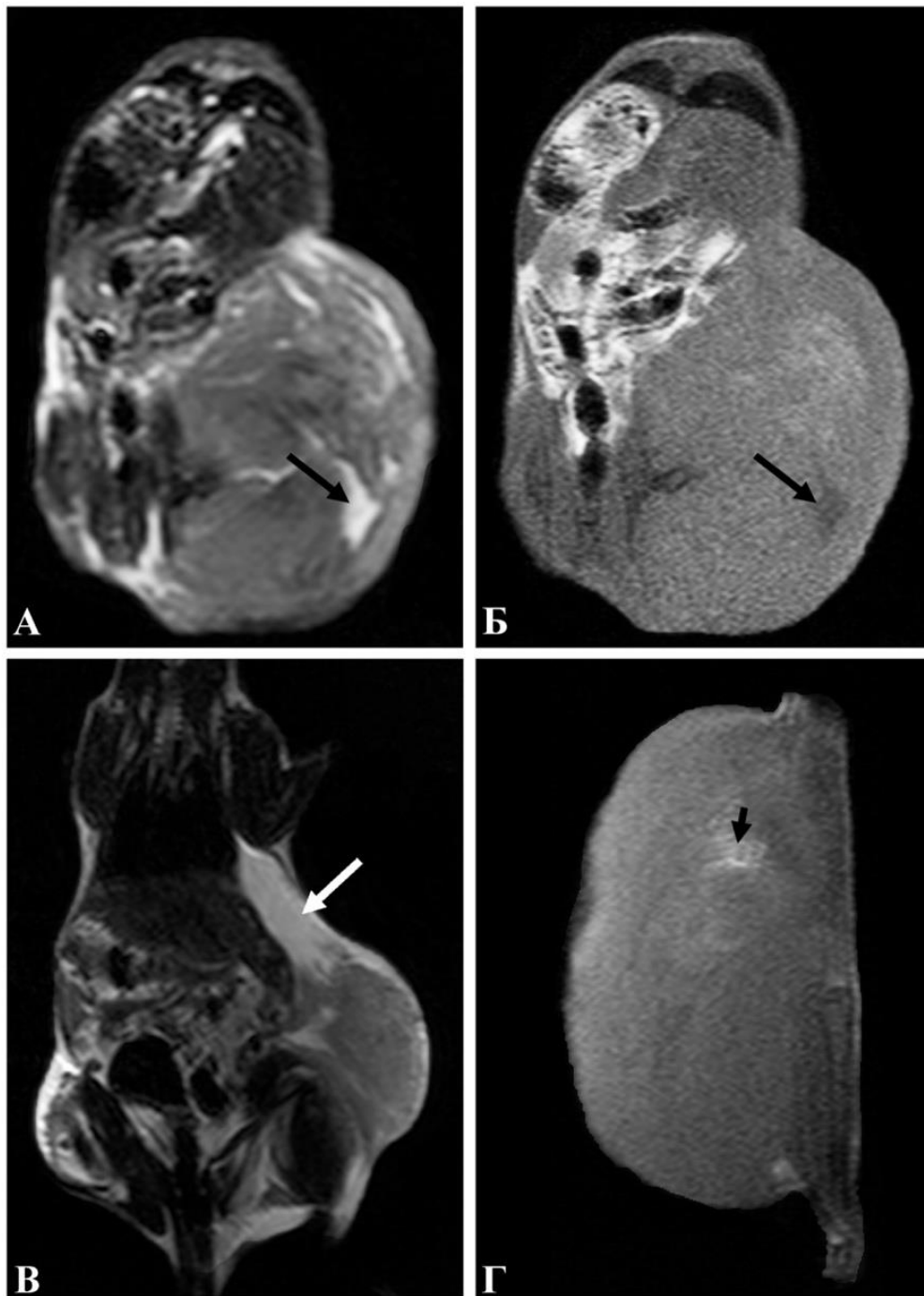


Рис. 2.13. Типові приклади якісних характеристик карциносаркоми Уокер-256 на МРТ-зображеннях тварин-пухлиноносіїв. T₂-зважене зображення (корональні зрізи (А, В), T₁-зважене зображення (корональний (Б) та сагітальний (Г) зріз): некротичні зміни – довгі чорні стрілки; перитуморальний набряк – довга біла стрілка; геморагії – коротка чорна стрілка.

Візуалізацію МНЧ в експериментальній моделі злоякісної пухлини було отримано у роботі [278]. Оскільки МНК на основі $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$, як правило, застосовують як T_2 -контрастні речовини [279], на отриманих T_2 -зважених зображеннях було сегментовано кругові зони інтересу однакового розміру (пухлина, м'яз і фон) з допомогою програмного забезпечення Horos 4.0 (Horos Project, Швейцарія). Центр зони інтересу пухлини визначався як перетин двох найдовших перпендикулярних діаметрів карциносаркоми Уокер-256; центр зони інтересу нормальних тканин відповідав точці перетину двох найдовших перпендикулярних діаметрів одного з м'язів задньої поверхні стегна на протилежній кінцівці. При виборі зони інтересу фону уникали ділянок, які могли містити артефакти руху [280]. Далі характеризували гетерогенність МРТ-зображень пухлини за параметрами гістограми – коефіцієнтом асиметрії ($k_{\text{асиметрії}}$, **формула 2.20**) та коефіцієнтом ексцесу ($k_{\text{ексцесу}}$, **формула 2.21**) [202]. Після вимірювання яскравості зон інтересу пухлини та фону розраховували контрастність (K) зображення (**формула 2.22**) [281].

$$k_{\text{асиметрії}} = \frac{n}{(n-1)(n-2)} \frac{\sum_{(x,y) \in R} [a(x,y) - \bar{a}]^3}{[SD(a)]^3}, \quad (2.20)$$

$$k_{\text{ексцесу}} = \frac{n(n+1)}{(n-1)(n-2)(n-3)} \frac{\sum_{(x,y) \in R} [a(x,y) - \bar{a}]^4}{[SD(a)]^4} - 3 \frac{(n-1)^2}{(n-2)(n-3)}, \quad (2.21)$$

де \bar{a} – середня яскравість зони інтересу пухлини на зображенні $a(x,y)$; n – загальна кількість пікселів у зоні інтересу; SD – стандартне відхилення середньої яскравості зони інтересу;

$$K = \frac{ROI_{\text{пухлина}} - ROI_{\text{фон}}}{ROI_{\text{фон}}}, \quad (2.22)$$

де $ROI_{\text{пухлина}}$ – середня яскравість зони інтересу пухлини; $ROI_{\text{фон}}$ – середня яскравість зони інтересу фону.

2.5.6. Спектроскопія електронного парамагнітного резонансу пухлини

ЕПР-спектри карциносаркоми Уокер-256 реєстрували на спектрометрі RE1307 з використанням циліндричного резонатора у режимі H_{011} на частоті

9,09 ГГц за температури 77 К при потужності мікрохвильового випромінювання 40 мВт, частоти модуляції 100 кГц. Зразки пухлини і м'язової тканини, отримані від щурів після евтаназії у стерильних умовах, поміщали у кварцову чашку Дьюара з внутрішнім діаметром 4,5 мм. ЕПР-сигнал розрізняли на основі g-факторів, як описано в роботі [282]. Рівні вільних радикалів, включаючи убісеміхінон, супероксидний радикал ($O_2^{\cdot-}$) та оксид азоту ($\cdot NO$), визначали відповідно до [205], [283], [284].

2.5.7. Гістологічний аналіз пухлини

Для гістологічних досліджень використовували зразки тканини карциносаркоми Уокер-256, які отримували одразу після анестезії й евтаназії шляхом видалення фрагментів пухлини. Зібраний матеріал пухлини фіксували у 10% нейтральному формаліні протягом 7 діб, потім заливали в парафін та виготовляли зрізи товщиною 5-6 мкм, які забарвлювали гематоксиліном-еозином за стандартною методикою [206] і досліджували з використанням мікроскопу Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія). Порівняння ступеня вираженості змін (некроз, апоптоз, фіброзне заміщення, геморагії, компресія, автофагія) у тканині пухлини між групами проводили на основі роботи [254].

2.6. Статистична обробка експериментальних даних

Описова статистика, використана для аналізу розподілу та варіативності даних, включала обчислення середнього значення (M), медіани (Me), максимального (max) та мінімального (min) значення, стандартної помилки середнього (m), стандартного відхилення (σ), міжквартильного інтервалу, коефіцієнтів варіації та асиметрії ($k_{асиметрії}$). Для оцінки відповідності нормальному розподілу зібраних даних у дослідженні використовували критерій Колмогорова – Смірнова (для вибірок > 50) та Шапіро – Вілка (для вибірок ≤ 50). Нульова гіпотеза в обох тестах полягала у припущенні, що розподіл вибірки не відрізняється від нормального (Гаусового). Для порівняння між двома групами даних у випадку нормального розподілу було використано двосторонній t -критерій

Ст'юдента (Student's t -test), нульова гіпотеза якого стверджувала, що середні значення двох груп рівні. Якщо розподіл даних не підпорядковувався нормальному закону, застосовували критерій Манна – Уїтні U (Mann – Whitney U -test), нульова гіпотеза якого стверджувала, що розподіли обох груп однакові за рангами. Для порівняння трьох і більше груп даних було використано однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) або критерій Краскела – Уолліса (Kruskal – Wallis). Однофакторний дисперсійний аналіз використовували, коли дані мали нормальний розподіл, і виконувалась умова однорідності дисперсій між групами, що перевіряли з допомогою тесту Левіна (Levene's test). У цьому випадку застосовували тест Тьюкі (Tukey HSD), а за відсутності однорідності дисперсій — тест Геймса – Хауелла (Games – Howell). Нульова гіпотеза (H_0) для ANOVA передбачала рівність середніх значень усіх груп. У разі ненормального розподілу даних застосовували непараметричний критерій Краскела – Уолліса, який порівнював ранги значень у різних групах, при цьому нульова гіпотеза передбачала однаковий розподіл значень у всіх групах. Коефіцієнт варіації розраховували як відсоткове відношення стандартного відхилення (σ) до середнього арифметичного (M) [285], [286]. Коефіцієнт детермінації (R^2) розраховували для експоненціальних регресійних моделей підвищення температури згідно з моделлю Арреніуса [287]. Для визначення статистично достовірної різниці рівень значущості було встановлено на рівні $p < 0,05$. Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням програмного пакета IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM, Inc., США).

РОЗДІЛ 3

РЕЄСТРАЦІЯ МЕХАНОЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ЗЛОЯКІСНИХ КЛІТИН

У **табл. 3.1** наведено порівняння сигналів ХЛ від МНК, клітин карциносаркоми Уокер-256 самостійно та при додаванні МНК із сигналами МЛ, ініційованої впливом РМП на МНК і злоякісні клітини. МЛ реєстрували унаслідок дії прикладеної магнітної сили на МНК, парамагнітні іони та вільні радикали в середовищі й клітинах, а за відсутності РМП сигнали люмінесценції реєстрували внаслідок спонтанної ХЛ.

Таблиця 3.1

Сигнали люмінесценції зареєстровані від МНК та клітин, ($M \pm m$)

Експеримент	Тип люмінесценції	Інтенсивність люмінесценції, c^{-1}	Коефіцієнт варіації, %
МНК	ХЛ	$3,4 \pm 0,5$	48,5
МНК + РМП	МЛ	$5,7 \pm 0,3^a$	15,8
Клітини карциносаркоми Уокер-256	ХЛ	$21,7 \pm 1,2^{ab}$	17,5
Клітини карциносаркоми Уокер-256 + РМП	МЛ	$21,9 \pm 0,9^{ab}$	13,5
МНК + клітини карциносаркоми Уокер-256	ХЛ	$8,7 \pm 0,7^{ab\gamma}$	26,6
МНК + клітини карциносаркоми Уокер-256 + РМП	МЛ	$30,1 \pm 1,8^{ab\gamma d}$	18,6

^a Статистично значуща різниця при порівнянні з МНК, $p < 0,05$;

^b статистично значуща різниця при порівнянні з МНК + РМП, $p < 0,05$;

^в статистично значуща різниця при порівнянні з клітинами карциносаркоми Уокер-256, $p < 0,05$;

^г статистично значуща різниця при порівнянні з клітинами карциносаркоми Уокер-256 + РМП, $p < 0,05$;

^д статистично значуща різниця при порівнянні з клітинами карциносаркоми Уокер-256 + МНК, $p < 0,05$.

Інтенсивність сигналів люмінесценції у відповідь на вплив РМП на МНК у середовищі була в 1,7 раза вищою, ніж у МНК самостійно. Інтенсивність сигналу від злоякісних клітин у середовищі достовірно не змінювалася за умов прикладання РМП без МНК. Додавання же МНК до клітин карциносаркоми Уокер-256

призводило до зниження інтенсивності ХЛ у 2,5 раза порівняно з клітинами без МНК. Така різниця в інтенсивності ХЛ пояснювалася, насамперед, здатністю поверхні МНЧ Fe_3O_4 у складі МНК поглинати широкий діапазон світлового випромінювання. Максимальна інтенсивність люмінесценції спостерігалась у злоякісних клітинах у відповідь на магніто-механохімічний ефект – збільшення від клітин з МНК під дією РМП у 3,5 і 1,4 раза порівняно з клітинами з МНК і лише клітинами відповідно ($p < 0,05$).

МЛ-сигнали характеризувалися меншим ступенем варіативності, ніж сигнали ХЛ. Коефіцієнт варіації сигналу від МНК зменшився в 3,1 раза у відповідь на РМП. Аналогічно, різниця між сигналами від злоякісних клітин з МНК під впливом і без впливу РМП становила 30%. Також клітини карциносаркоми Уокер-256, навіть за відсутності МНК, у відповідь на РМП продемонстрували зменшення коефіцієнта варіації сигналу порівняно з клітинами без впливу поля. Додавання МНК до злоякісних клітин призвело до 1,5-кратного збільшення коефіцієнта варіації ХЛ порівняно з клітинами самостійно.

На **рис. 3.1** і в **табл. 3.2** наведено порівняння частотних розподілів інтенсивності зареєстрованих сигналів ХЛ та МЛ. Розподіл сигналів МЛ від МНК (**рис. 3.1, Г**), злоякісних клітин карциносаркоми Уокер-256 (**рис. 3.1, Д**) і МНК + злоякісні клітини (**рис. 3.1, Е**) під впливом РМП був більш симетричним та мав менше відхилення від нормального розподілу, ніж відповідних сигналів ХЛ (**рис. 3.1, А–В**). Розподіл сигналів від МНК + РМП був найбільш симетричним, оскільки мав найнижче абсолютне значення коефіцієнта асиметрії (*касиметрії*). Сигнали від МНК + злоякісні клітини характеризувалися меншим відхиленням від нормального розподілу згідно з розрахованим p -значенням, що було у 3,6 і 4,5 раза вищим, аніж для МНК або злоякісних клітин окремо відповідно. Розподіл МЛ-сигналів від злоякісних клітин під впливом РМП за відсутності МНК мав найменше відхилення серед усіх експериментів від нормального розподілу ($p = 0,76$). МЛ-сигнали, зареєстровані від злоякісних клітин з МНК під дією РМП, також показали менше відхилення від нормального розподілу, ніж ХЛ-сигнали без впливу РМП.

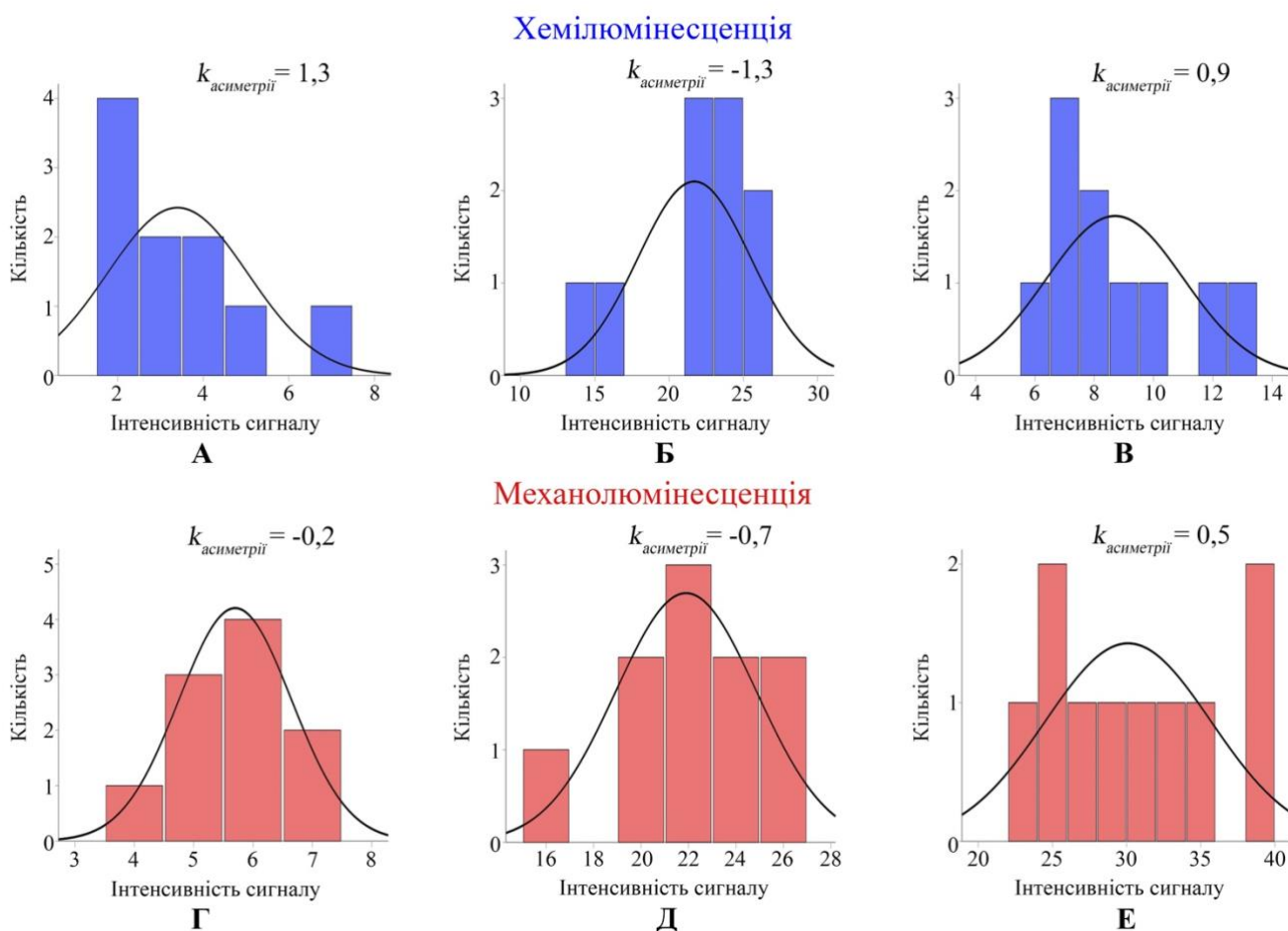


Рис 3.1. Розподіл інтенсивності люмінесценції. Хемілюмінесценція: МНК (А); клітини карциносаркоми Уокер-256 (Б); МНК + клітини карциносаркоми Уокер-256 (В). Механолюмінесценція: МНК + РМП (Г); клітини карциносаркоми Уокер-256 + РМП (Д); МНК + РМП + клітини карциносаркоми Уокер-256 (Е)

Розвиток і поширення злоякісних пухлин супроводжуються змінами нелінійної динаміки механоемісії, що виникає внаслідок механохімічних взаємодій між злоякісними клітинами й мікрооточенням та подальшої генерації АФК [69]. Крім того, низка подій у злоякісному процесі зумовлена порушенням симетрії (до прикладу, асиметричний поділ клітин, форма, метаболічна відповідь і розподіл сигналів) [23]. Отримані експериментальні дані можливо інтерпретувати в контексті стохастичних фізико-хімічних процесів випромінювання світла у відповідь на магніто-механохімічний ефект МНК $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ під дією РМП на злоякісні клітини карциносаркоми Уокер-256.

Таблиця 3.2

Порівняння розподілу зареєстрованих сигналів люмінесценції з нормальним (Гаусовим) розподілом

Експеримент	Тип люмінесценції	<i>p</i> -значення	Тип розподілу
МНК	ХЛ	0,045	Ненормальний
МНК + РМП	МЛ	0,287	Нормальний
Клітини карциносаркоми Уокер-256	ХЛ	0,041	Ненормальний
Клітини карциносаркоми Уокер-256 + РМП	МЛ	0,755	Нормальний
МНК + клітини карциносаркоми Уокер-256	ХЛ	0,178	Нормальний
МНК + клітини карциносаркоми Уокер-256 + РМП	МЛ	0,447	Нормальний

По-перше, РМП впливало на кінетику вільнорадикальних реакцій рекомбінації у злоякісних клітинах з МНК [62]. Взаємодія між непокритою поверхнею МНЧ Fe_3O_4 у МНК і клітинним пероксидом водню – один з основних механізмів продукції АФК, що утворювались у результаті реакції Фентона та Габера – Вайса [288]. По-друге, ініціація МЛ зазвичай виникає при нерівномірних механічних деформаціях органічних кристалів, що призводить до дислокацій носіїв заряду поблизу дефектів, викликаних напруженням [289]. Отже, процеси асиметричного переносу заряду між МНК і клітинними біополімерами в умовах РМП сприяли емісії МЛ.

РМП було обрано для впливу на МНК у злоякісних клітинах та їхньому середовищі з метою ініціації МЛ, враховуючи результати роботи [290], у якій РМП продемонструвало більш значний лікувальний ефект, аніж ЕМП. З огляду на те, що магнітна сила, яка діяла на МНК, становила від 0,12 до 0,02 пН (**рис. 2.5**) на відстані < 50 мм від центра магніту, доцільніше розглядати МЛ як наслідок пружних і пластичних деформацій, спричинених МНК, а не розриву. Відтак, для розриву ковалентного зв'язку потрібна була би сила на кілька порядків більша

(1000–5000 пН), ніж та, яку було прикладено на МНК у злоякісних клітинах карциносаркоми Уокер-256 та їхньому середовищі [15].

Сигнали МЛ, зареєстровані від клітин карциносаркоми Уокер-256 з МНК у відповідь на РМП, мали менше значення коефіцієнта варіації, ніж сигнали ХЛ від клітин з МНК. Це спостереження також добре узгоджувалося з меншим значенням коефіцієнта варіації сигналів, зареєстрованих від МНК + РМП у порівнянні з МНК окремо. Суттєвої різниці у кількості рахунків світлових фотонів між ХЛ і МЛ клітин карциносаркоми Уокер-256 за відсутності МНК не було виявлено (**табл. 3.1**). З допомогою градієнта магнітного поля можна модулювати просторову самоорганізацію МНК, розподіл магнітних сил і сигналів МЛ, які вони генерують у біологічних середовищах [78]. Відмінності у частотних розподілах інтенсивності сигналів ХЛ і МЛ (коефіцієнти варіації та асиметрії) відображали різні шляхи перетворення енергії. Виходячи зі значень коефіцієнта асиметрії (**рис. 3.1**) та оцінки відхилення сигналів від нормального розподілу (**табл. 3.2**), нерівномірний розподіл магнітної сили, що діяв при РМП на МНК, впливав на симетрію і форму розподілів сигналів МЛ. До того ж емісія МЛ могла виникати внаслідок впливу розподілу магнітної сили на рух парамагнітних іонів і тертя в злоякісних клітинах, однак величина цих ефектів швидко коливалася при будь-яких локальних змінах середовища [291]. Отримані експериментальні результати реєстрації світлового випромінювання вказують на те, що МЛ дозволяла виявити магніто-механохімічні ефекти МНК на макроскопічних зразках біологічних об'єктів по відношенню до процесів на квантовому рівні [292].

Незважаючи на те, що в даній роботі явища МЛ і ХЛ були обговорені окремо, вони насправді пов'язані між собою та є індикаторами утворення АФК [293], [294]. Взаємозв'язок між ХЛ і МЛ залежав від взаємодії різних внутрішніх (наприклад, молекулярна структура) і зовнішніх (наприклад, прикладені сили) факторів. З цієї причини інтенсивність сигналу від клітин карциносаркоми Уокер-256 з МНК під впливом РМП могла залежати від спонтанної ХЛ. Непружне розсіювання в кристалічній структурі МНК призводить до утворення парамагнітних іонів та поверхневих плазмонів, які впливають на результуючі сигнали ХЛ і МЛ [295]. Тому

доречно припустити, що дія МНК $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ з РМП на злоякісні клітини не тільки трансформувалась у біохімічні сигнали через магніто-механохімічні ефекти, але й через індуковані світлом окисно-відновні реакції [296], [297]. Останнє знаходить підтвердження у роботі з використанням багатофункціональних наноструктур $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$, призначених для магнітооптичного зондування та протипухлинного впливу [298].

Варто відмітити, що багато діагностичних рішень в онкологічній практиці ґрунтуються на вирішенні проблем розуміння взаємозв'язку між різними рівнями організації в організмі людини. Отже, оцінка емісії МЛ у комбінації з ультразвуковою та магнітно-резонансною еластографією може надати додаткову інформацію про зміни на тканинному, клітинному, молекулярному і квантовому рівнях для підвищення точності медичної діагностики. Наступним важливим кроком у біомедичній трансляції МЛ до клінічного застосування у діагностиці та лікуванні онкологічних пацієнтів буде зосередження на еластичнолюмінесцентних матеріалах [86] і дослідженні кореляційного зв'язку між емісією МЛ та магніто-механохімічними ефектами МНК.

Висновки до розділу 3

У цьому розділі показано можливість реєстрації МЛ, ініційованої МНК у середовищі з клітинами карциносаркоми Уокер-256 під впливом РМП із використанням розробленого пристрою. У ході дослідження було проведено порівняння сигналів спонтанної ХЛ, зареєстрованої від МНК окремо та злоякісних клітин без і з додаванням МНК, із сигналами МЛ, ініційованої магніто-механохімічним ефектом при застосуванні РМП. Інтенсивність МЛ у клітинах карциносаркоми Уокер-256 з МНК під впливом РМП була в 3,5 і 1,4 раза вищою, ніж інтенсивність ХЛ у злоякісних клітинах з МНК і без них відповідно ($p < 0,05$). Вплив РМП призводив до зменшення абсолютного значення коефіцієнта асиметрії розподілу люмінесцентних сигналів від МНК та злоякісних клітин без і з додаванням МНК. Сигнали МЛ також мали менше значення коефіцієнта варіації і менше відхилення від нормального розподілу, ніж сигнали ХЛ.

РОЗДІЛ 4

ПРОТИПУХЛИННИЙ ВПЛИВ ІНДУКЦІЙНОЇ ПОМІРНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ З ПОСТІЙНИМ МАГНІТНИМ ПОЛЕМ І МАГНІТНИМИ НАНОЧАСТИНКАМИ ТА РАДІОЛОГІЧНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ ФАНТОМА ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

4.1. Аналіз рентгенівських цифрових томосинтетичних зрізів та ультразвукових зображень зони інтересу пухлини фантома

На **рис. 4.1** показано типові РЦТ-зображення (**рис. 4.1, А–В**) та УЗД (**рис. 4.1, Г–Е**) розробленого фантома грудної залози. Зона інтересу пухлини з клітинами MCF-7 у середовищі DMEM характеризувалася середньою рентген-щільністю по відношенню до зони інтересу тканини-імітації грудної залози, наявністю артефактів заднього плану (out-of-plane) на контурах через вищу рентген-щільність капіляру та криволінійних ділянок унаслідок компресії (**рис. 4.1, А**). На В-режимі УЗД зона інтересу пухлини також була візуалізована ізоехогенною відносно зони тканини-імітації грудної залози з гіперехогенними контурами (**рис. 4.1, Г**). Додавання МНЧ до зони інтересу пухлини призводило до появи множинних дифузно розсіяних ділянок високої рентген-щільності крапчатої, лінійної та криволінійної форми на РЦТ-зображеннях (**рис. 4.1, Б**). Середня яскравість при додаванні МНЧ була в 1,4 раза вищою, аніж зона інтересу пухлини без МНЧ ($183,6 \pm 0,4$ у.о., $p < 0,05$). Аналогічно, на УЗД МНЧ (**рис. 4.1, Д**) були представлені множинними гіперехогенними зонами з акустичним затіненням між ними в результаті реверберації (відбиття ультразвуку від кластерів МНЧ, між ними і датчиком), дифракції (розсіювання ультразвуку від країв і кутів кластерів МНЧ) та поглинання ультразвуку в МНЧ. У відповідь на прикладення ПМП кластери МНЧ змінили свою просторову організацію (**рис. 4.1, В**), що характеризувалося більшою згурпованістю та більш вираженими явищами поглинання низькоенергетичної складової спектра рентгенівського випромінювання та розсіюванням від МНЧ (чергування темних і світлих зон між та навколо кластерів

МНЧ). При візуалізації методом УЗД, зона інтересу пухлини з МНЧ була представлена серією вертикальних реверберацій по типу «хвоста комети» (comet tail) (рис. 4.1, Е), що виникали на поверхні безперервно сформованих кластерів МНЧ через відбиття ультразвуку між ними і перетворювачем [299], [300]. Кількісне порівняння зміни щільності пікселів та форми кластерів МНЧ під впливом ПМП наведено у табл. 4.1. Під впливом ПМП просторовий розподіл кластерів МНЧ мав в 1,9 раза вищу щільність пікселів та на 14% більш округлу форму ($p < 0,05$).

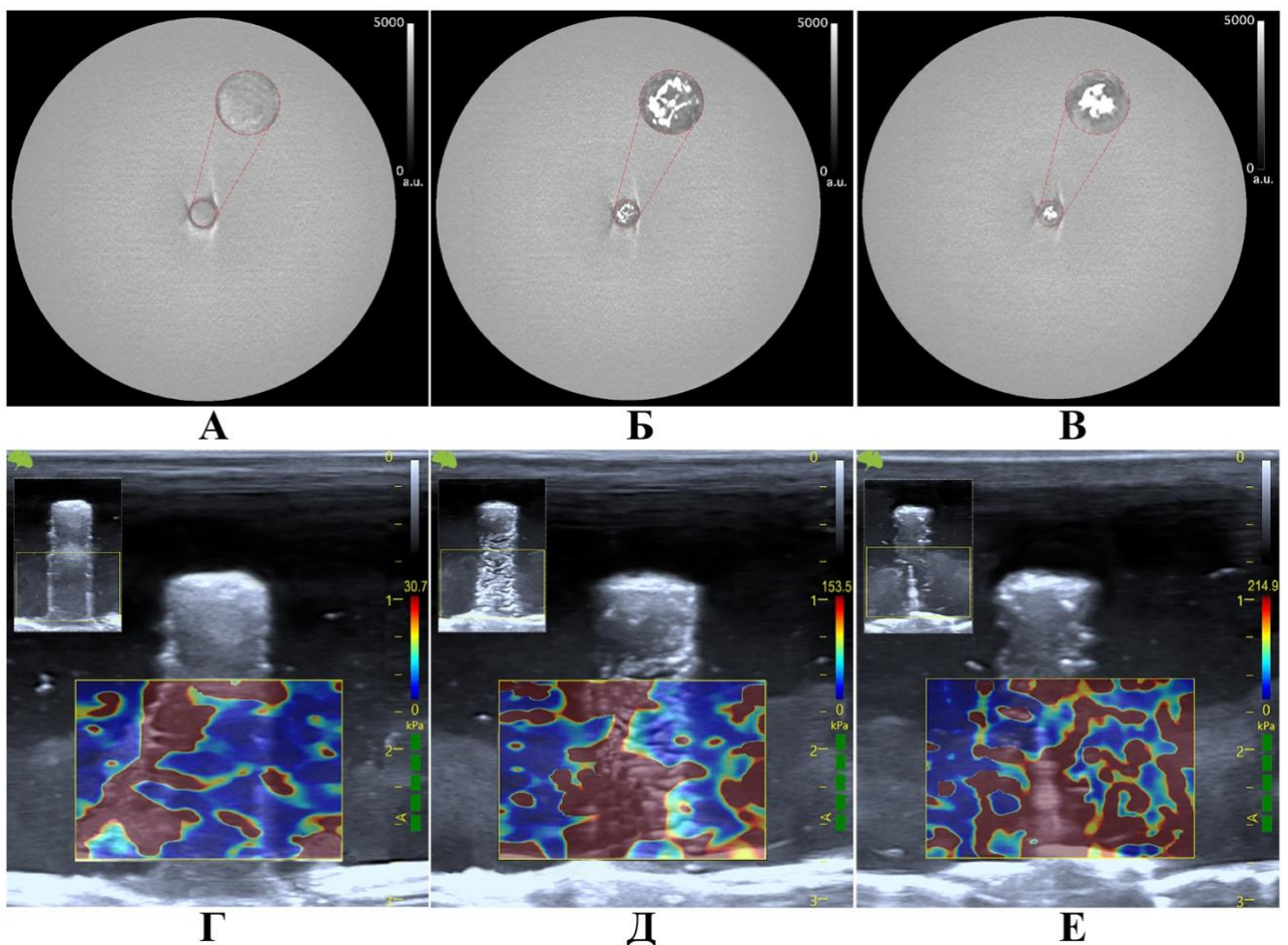


Рис. 4.1. РЦТ-зрізи (А–В, червоні вставки в колах показують збільшене зображення зони інтересу пухлини) та УЗЕ-зображення (Г–Е, вставки в лівому верхньому куті показують УЗД-зображення у *В*-режимі) розробленого фантома грудної залози: зона інтересу пухлини (А, Г); зона інтересу пухлини + МНЧ (Б, Д); зона інтересу пухлини + МНЧ + ПМП (В, Е).

Таблиця 4.1

Текстурні параметри форми та щільності кластерів МНЧ у фантомі, ($M \pm m$)

Зона інтересу	Щільність пікселів, піксель ⁻¹	Округлість, у.о.
Пухлина + МНЧ	$0,28 \pm 0,03$	$0,70 \pm 0,02$
Пухлина + МНЧ + ПМП	$0,53 \pm 0,04^*$	$0,81 \pm 0,02^*$

* Статистично значуща різниця при порівнянні з пухлиною + МНЧ, $p < 0,05$.

Текстурний аналіз гетерогенності отриманих зображень зони інтересу пухлини (табл. 4.2) показав, що клітини MCF-7 у середовищі DMEM мають найвище значення фрактальної розмірності й найнижчі значення лакуарності та модуля Юнга. Додавання МНЧ призводило до збільшення модуля Юнга зони інтересу на 61%. Важливо відмітити, що застосування ПМП викликало збільшення фрактальної розмірності на 22% і зменшення лакуарності на 18% порівняно з зоною інтересу з МНЧ без впливу ПМП. Останнє свідчить про те, що формування кластерів МНЧ у клітинах MCF-7 та середовищі DMEM у відповідь на ПМП було менш гетерогенним. Водночас, зміна гетерогенності формування кластерів МНЧ унаслідок дії ПМП супроводжувалася збільшенням значення модуля Юнга в 4,5 і 1,8 раза порівняно з зоною інтересу пухлини без та з МНЧ відповідно ($p < 0,05$).

Таблиця 4.2

Текстурні параметри гетерогенності та механічні властивості кластерів МНЧ у фантомі, ($M \pm m$)

Зона інтересу	Фрактальна розмірність, у.о.	Лакуарність, у.о.	Модуль Юнга, кПа
Пухлина	$1,77 \pm 0,001$	$0,23 \pm 0,001$	$40,16 \pm 1,71$
Пухлина + МНЧ	$1,14 \pm 0,006^*$	$0,50 \pm 0,005^*$	$102,53 \pm 13,98^*$
Пухлина + МНЧ + ПМП	$1,46 \pm 0,005^{*#}$	$0,41 \pm 0,004^{*#}$	$181,05 \pm 35,89^{*#}$

* Статистично значуща різниця при порівнянні з пухлиною, $p < 0,05$;

статистично значуща різниця при порівнянні з пухлиною + МНЧ, $p < 0,05$.

Формування кластерів – це процес, у якому МНЧ взаємодіяли одна з одною, і за умови, що сили притягання ставали сильнішими за сили відштовхування, вони залишалися пов'язаними між собою. Навіть за відсутності зовнішнього магнітного поля ФМНЧ мали тенденцію до утворення ланцюгових та кільцевих кластерів у результаті магнітних дипольних взаємодій. ПМП створювало магнітну силу, яка спрямовувала МНЧ до області з найбільшою напруженістю поля. Притягання між МНЧ у навколишньому середовищі зростало пропорційно квадрату напруженості поля [301]. Відомо, що форма кластерів МНЧ залежить від їхньої залишкової намагніченості і напрямку вектора прикладеного поля. Якщо вектор ПМП був паралельний вектору намагніченості МНЧ, вони були схильні до зближення, коли ж конфігурація була антипаралельною, то кластери МНЧ демонстрували патерни, в яких вони розходились одна від одної. В останньому випадку очікувалося формування складніших нелінійних структур і розгалуження кластерів МНЧ [78]. У даній роботі ПМП ініціювало магнітну силу в діапазоні 0,001–255,28 пН (табл. 2.3). Слід зазначити, що сили порядку 0,2–150 пН ініціювали магніто-механохімічний ефект через конформаційні зміни в білках і вплив на проникність клітинних мембран [15].

4.2. Аналіз температури у зоні інтересу пухлини фантома при індукційній поірній гіпертермії з постійним магнітним полем та магнітними наночастинками

На рис. 4.2 наведено криві нагріву зони інтересу пухлини під впливом ІПГ з ПМП без та з присутністю МНЧ протягом 30 хвилин. Максимальна температура при додаванні МНЧ була на 1,3 °C вищою порівняно з ІПГ + ПМП без МНЧ. Згідно зі спостереженнями в роботах [262], [302], енергія ЕМП більшою мірою поглиналася біля країв петльового аплікатора, ніж у його центрі, зважаючи на те, що інтенсивність електричної складової і SAR значно зростала в ближній зоні поля. При цьому максимальна виміряна температура не перевищувала 42 °C ані в області

пухлини, ані в усьому фантомі протягом впливу ІПГ з ПМП без та з присутністю МНЧ.

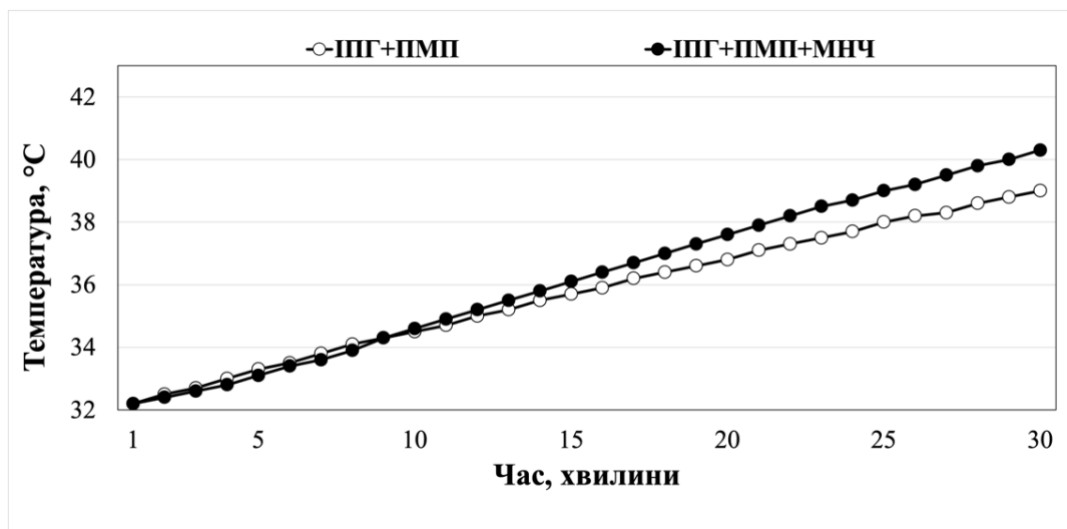


Рис. 4.2. Криві підвищення температури та коефіцієнти детермінації (R^2) у зоні інтересу пухлини протягом 30 хвилин впливу: ІПГ + ПМП ($T = 32,245e^{0,0065t}$; $R^2 = 0,9963$, $T_{max} = 39,0$ °C) і ІПГ + ПМП + МНЧ ($T = 31,908e^{0,008t}$; $R^2 = 0,9975$; $T_{max} = 40,3$ °C).

4.3. Вплив індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем та магнітними наночастинками на виживаність MCF-7 клітин

На **рис. 4.3** наведено вплив ІПГ з ПМП окремо або у комбінації з МНЧ на життєздатність клітин MCF-7. Безперервний 30-хвилинний вплив ІПГ з ПМП та додаванням МНЧ призвів до нижчої частки життєздатних клітин ($p < 0,05$).

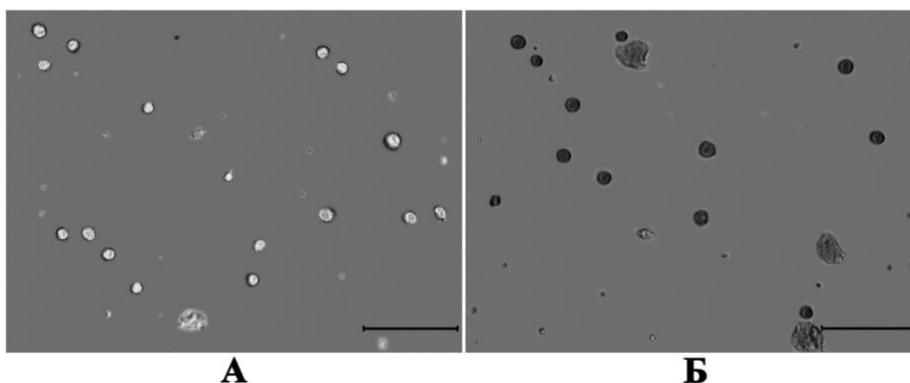


Рис. 4.3. Життєздатність клітин MCF-7 (позначка на мікрофотографії 25 мкм) після 30 хвилин впливу: ІПГ + ПМП (А) та ІПГ + ПМП + МНЧ (Б).

Життєздатні клітини MCF-7 після дії ІПГ з ПМП та додаванням МНЧ мали більше значення фрактальної розмірності та нижче значення лакунарності (табл. 4.3), що узгоджувалося з даними текстурного аналізу кластерів МНЧ на РЦТ-зрізах (табл. 4.2).

Таблиця 4.3

Життєздатність та текстурні параметри клітин MCF-7, ($M \pm m$)

Експеримент	Життєздатні клітини, %	Фрактальна розмірність, у.о.	Лакунарність, у.о.
ІПГ + ПМП	$92 \pm 2,9$	$1,13 \pm 0,093$	$1,17 \pm 0,172$
ІПГ + ПМП + МНЧ	$5 \pm 0,7^*$	$1,59 \pm 0,054^*$	$0,16 \pm 0,013^*$

* Статистично значуща різниця при порівнянні з ІПГ + ПМП, $p < 0,05$.

Хоча більшість досліджень в основному зосереджені на досягненні помірного нагріву при 42 °С, така температура є близькою до значення больового порогу, спричиненого нагріванням м'яких тканин у грудній клітці людини [13], [303]. Величина ж компресійної сили при проведенні мамографії (> 150 Н), що призводить до виникнення больового відчуття у жінок, є суттєво меншою [14] за сили 0,2–5000 пН [15], створені МНЧ під дією ПМП, які впливають на злоякісні клітини. Саме тому комбінація магніто-механохімічних і теплових ефектів МНЧ під впливом ІПГ з ПМП є перспективним для подальшої трансляції у клінічне застосування. Значення рН може слугувати непрямим індикатором окисно-відновних змін [304]. Додавання МНЧ до зони інтересу пухлини під впливом ІПГ з ПМП підвищувало рН ($7,74 \pm 0,01$) порівняно з ІПГ з ПМП без МНЧ ($7,55 \pm 0,01$; $p < 0,05$), що є імовірним за рахунок реакції Фентона при взаємодії МНЧ на основі магнетиту з біологічним середовищем та злоякісними клітинами [305]. Одним із підходів до подолання хіміорезистентності та зменшення кількості нежиттєздатних злоякісних клітин є зміна рН середовища з кислого на більш лужний [306]. Практичне значення полягає в тому, що запропонована конструкція фантома може бути використана для планування лікування злоякісних новоутворень грудної

залози, де МНЧ слугували б маркером для візуалізації та водночас локалізатором магніто-механохімічних і теплових ефектів ІПГ.

Висновки до розділу 4

Розроблений дизайн фантома грудної залози для ІПГ дав можливість візуалізувати методами РЦТ та УЗД кластери МНЧ у зоні інтересу пухлини. Застосування ПМП призводило до зниження на 18% гетерогенності просторового розподілу кластерів МНЧ та підвищення в 1,8 раза величини модуля Юнга зони інтересу пухлини зі злоякісними клітинами, ніж за відсутності ПМП ($p < 0,05$). МНЧ під впливом ІПГ з ПМП призводили до зниження життєздатності клітин MCF-7 на 87% протягом 30 хвилин відносно ІПГ з ПМП без МНЧ ($p < 0,05$), при цьому підвищення максимальної зареєстрованої температури у пухлині фантома не перевищувало 1,3 °C.

РОЗДІЛ 5

ПРОТИПУХЛИННИЙ ВПЛИВ ІНДУКЦІЙНОЇ ПОМІРНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ З ПОСТІЙНИМ МАГНІТНИМ ПОЛЕМ І МАГНІТНИМИ НАНОЧАСТИНКАМИ ТА РАДІОЛОГІЧНА ВІЗУАЛІЗАЦІЯ КАРЦИНОСАРКОМИ УОКЕР-256

5.1. Ультразвукова візуалізація біомеханічних параметрів карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітних наночастинок та постійного магнітного поля

На **рис. 5.1** наведено приклади типових УЗД-зображень у *B*-режимі карциносаркоми Уокер-256 у тварин-пухлиноносіїв. У контрольній групі (**рис. 5.1, А**) та після дії МНЧ (**рис. 5.1, Б**) пухлини мали неправильну овальну форму, неоднорідну структуру з ділянками некрозу, з бугристими, місцями нечіткими, контурами, ознаками компресії оточуючих тканин. У відповідь на вплив МНЧ з ПМП пухлини набували більш витягнутої форми, характеризувалися значними некротичними змінами, більш однорідною тяжистою структурою (**рис. 5.1, В**). Приклад візуалізації нормальних тканин задньої кінцівки з протилежної від пухлини сторони тварин представлено на **рис. 5.1, Г**.

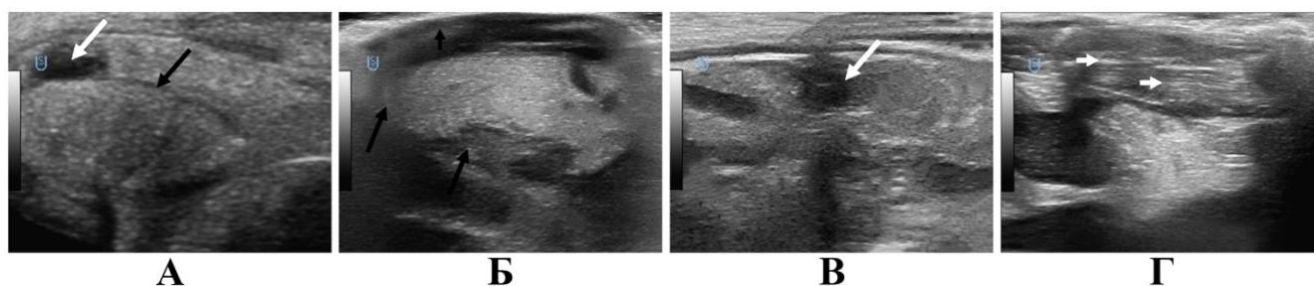


Рис. 5.1. УЗД-зображення (аксіальне сканування, *B*-режим) карциносаркоми Уокер-256 у тварин-пухлиноносіїв на 9-ту добу після перещеплення: контрольна група (А); вплив МНЧ (Б); вплив МНЧ + ПМП (В); протилежна задня кінцівка (Г). Бугристі місцями нечіткі контури – довгі чорні стрілки; ознаки компресії оточуючих тканин – короткі чорні стрілки; некротичні зміни – довгі білі стрілки; посмугованість м'язової тканини – короткі білі стрілки.

На **рис. 5.2** показано УЗЕ-зображення карциносаркоми Уокер-256, а в **табл. 5.1** наведено зміни величини модуля Юнга для пухлин у відповідь на МНЧ і МНЧ + ПМП. Проаналізувавши отримані дані, слід відмітити наступні особливості. У всіх групах, показник жорсткості був достовірно вищим у пухлинах, аніж в нормальних тканинах на протилежній кінцівці. У контрольній групі величина модуля Юнга в пухлині була в 1,7 раза вищою, ніж у здоровій кінцівці. Після самостійного впливу МНЧ показник жорсткості пухлини мав найвище значення (в 1,9 та 2,7 раза вище, ніж у контрольній групі та МНЧ + ПМП відповідно), що пов'язано з накопиченням МНЧ у пухлині та її мікрооточенні [307]. У відповідь на МНЧ під впливом ПМП модуль Юнга у пухлині був на 28% нижчим, аніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Варто зазначити, що показник жорсткості пухлини мав найближче значення до нормальних тканин у протилежній кінцівці саме після МНЧ + ПМП.

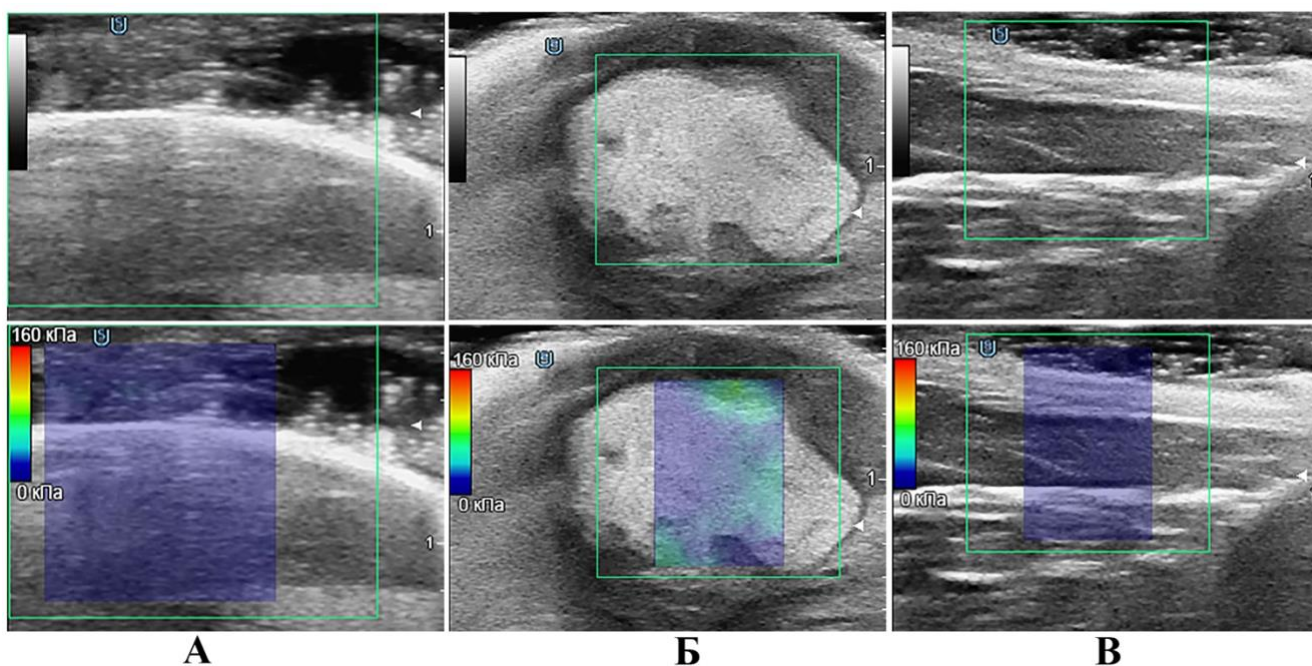


Рис. 5.2. Зображення зони інтересу пухлини (аксіальне сканування) на *B*-режимі УЗД (верхній ряд) та УЗЕ (нижній ряд) тварин з карциносаркомою Уокер-256 на 9-ту добу після перещеплення: контрольна група (А); МНЧ (Б); МНЧ + ПМП (В).

**Модуль пружності Юнга карциносаркоми Уокер-256 на 9-ту добу після
перещеплення, ($M \pm m$)**

Група тварин	Пухлина, кПа	Протилежна кінцівка, кПа	Співвідношення пухлини до протилежної кінцівки
Контроль	$13,47 \pm 0,47$	$7,73 \pm 0,37^*$	1,7
МНЧ	$26,17 \pm 1,55^+$	$7,22 \pm 0,34^*$	3,6
МНЧ + ПМП	$9,72 \pm 0,27^{+\S}$	$6,63 \pm 0,36^*$	1,5

* Статистично значуща різниця при порівнянні з зоною інтересу пухлини у відповідній групі, $p < 0,05$;

+ статистично значуща різниця при порівнянні з контролем, $p < 0,05$;

§ статистично значуща різниця при порівнянні з МНЧ, $p < 0,05$.

Вищенаведені експериментальні результати оцінки відмінностей між групами тварин-пухлиноносіїв можливо пояснити, спираючись на те, що зменшення показника жорсткості пухлин з МНЧ відбувалося переважно під впливом ПМП унаслідок дистанційного впливу магнітної сили на більш рівномірний розподіл МНЧ у пухлині. Крім того, доречно взяти до уваги й іншу особливість трактовки отриманих результатів. Різниця в біомеханічних параметрах пухлин була зумовлена заміщенням пухлини тканинами, які мали меншу жорсткість.

5.2. Кінетика росту та морфологічні характеристики карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітних наночастинок та постійного магнітного поля

У **табл. 5.2** наведено результати впливу МНЧ і ПМП на нелінійну кінетику росту карциносаркоми Уокер-256 з 1-шої по 9-ту добу після перещеплення пухлинних клітин за параметрами фактору росту φ та коефіцієнтом гальмування κ . Самостійний вплив МНЧ на кінетику росту пухлини достовірно не відрізнявся від контрольної групи. Використання МНЧ у комбінації з магнітно-дипольним аплікатором ініціювало на 15% і 17% вищі значення коефіцієнта гальмування росту

пухлини, ніж у контрольній групі та за самостійного впливу МНЧ відповідно ($p < 0,05$).

Таблиця 5.2

Параметри нелінійної кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 з 1-ої по 9-ту добу після перещеплення, ($M \pm m$)

Група тварин	Фактор росту пухлини (ϕ), доба ⁻¹	Коефіцієнт гальмування росту, κ
Контроль	$0,88 \pm 0,01$	1,00
МНЧ	$0,91 \pm 0,02$	0,98
МНЧ + ПМП	$0,75 \pm 0,01^{*+}$	1,18

* Статистично значуща різниця при порівнянні з контролем, $p < 0,05$;

+ статистично значуща різниця при порівнянні з МНЧ, $p < 0,05$.

На **рис. 5.3** наведено типові цифрові мікрофотографії гістологічних препаратів пухлин, а в **табл. 5.3** – порівняння ознак їхньої деструкції між групами досліджених тварин.

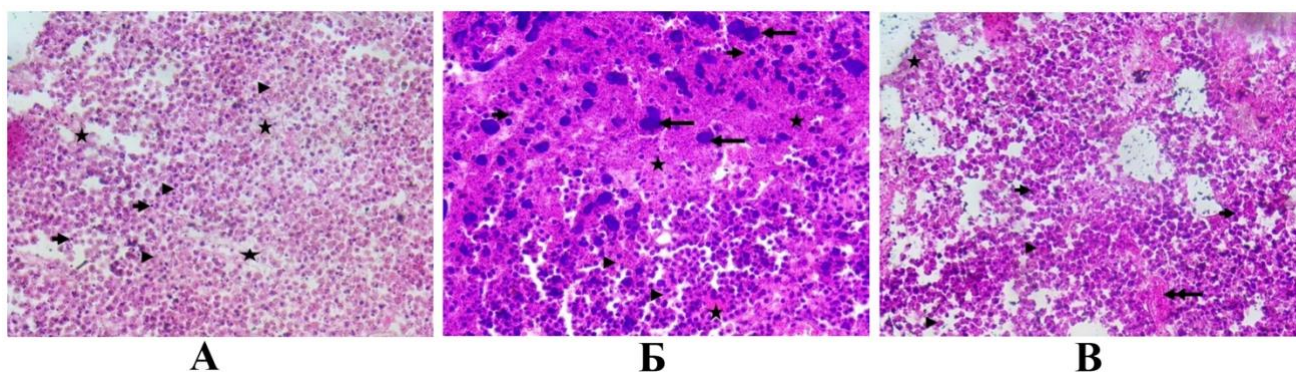


Рис. 5.3. Мікрофотографії гістологічних препаратів карциносаркоми Уокер-256 на 9-ту добу після перещеплення: контрольна група (А); МНЧ (Б); МНЧ + ПМП (В). Фарбування гематоксиліном-еозином, $\times 400$. Короткі стрілки – апоптичні клітини, каріорексис; довгі стрілки – ознаки компресії тканини; довгі стрілки з двома головками – сполучнотканинні волокна; наконечники стрілок – еозинофільні включення в цитоплазмі; зірочки – зони некрозу.

Пухлини тварин з контрольної групи (**рис. 5.3, А**) склалися переважно з саркоїдного компонента, представленого малодиференційованими клітинами з гіперхромними ядрами, подекуди зустрічалися сполучнотканинні волокна. Спостерігалися масивні зони некрозу та апоптозу, представлені еозинофільними клітинами, що не містили ядер (каріорексис), також зустрічалися фрагментовані ядра за межами клітин. Клітини містили еозинофільні цитоплазматичні включення, що могло бути наслідком автофагії і є характерним для пухлинних клітин [308]. Пухлини, в яких знаходилися МНЧ (**рис. 5.3, Б**), мали переважно саркоїдний компонент, м'язові та сполучнотканинні волокна практично відсутні. Відмічені ознаки компресії тканин у вигляді злиття гіперхромних ядер, оточених масивними зонами некрозу й апоптозу, клітини були дуже багатими на еозинофільні цитоплазматичні включення та зустрічалися крововиливи. У пухлинах з групи комбінованого впливу МНЧ і ПМП (**рис. 5.3, В**), мали місце масивні зони некрозу, подекуди апоптозу (каріорексис, фрагментовані ядра). Клітини та залишки клітин саркоїдного і м'язового походження були багатими на еозинофільні включення.

Таблиця 5.3

**Ознаки деструкції карциносаркоми Уокер-256 на 9-ту добу після
перещеплення**

Ознака	Контроль	МНЧ	МНЧ + ПМП
Некроз	+++	++	+++
Апоптоз	++	+++	+
Фіброзне заміщення	-	-	+
Геморагії	-	+	-
Компресія	-	+	-
Еозинофільні цитоплазматичні включення (автофагія)	++	+++	++

Виразеність явища: “-” – не спостерігається; “+” – поодинокі чи слабко виражені; “++” – помірно виражені; “+++” – значно виражені.

Оскільки зміни механічних сил у пухлині та її мікрооточенні є одним із факторів росту і метастазування [53], відмінності у кінетиці росту карциносаркоми

Уокер-256 між контрольною, МНЧ та МНЧ + ПМП групами залежали від змін біомеханічних параметрів пухлин. По-перше, накопичення МНЧ у пухлинних клітинах призводило до реорганізації цитоскелету та збільшення жорсткості, що узгоджувалося з отриманими результатами – найвищим значення модуля Юнга у пухлинах з МНЧ [309]. Ознаки компресії тканини пухлини з МНЧ виникали внаслідок їхньої агрегації за відсутності ПМП як прояв феромагнітних властивостей та магнітних диполь-дипольних взаємодій між МНЧ. За даними досліджень [310], механічні сили (1,3–13,3 кПа), які виникали у процесі росту злоякісних пухлини, здатні до деформації та компресії хаотичних судинних мереж злоякісних пухлин. Тому, наявність геморагій у пухлинах з МНЧ могла бути спровокована механічною компресією судин агрегатами МНЧ. Найнижче значення модуля Юнга у пухлині було зумовлено застосуванням ПМП з магнітно-дипольним аплікатором з постійний магнітом, що сприяло розподілу МНЧ в опроміненій ділянці за градієнтом ПМП [78] та подальшому захопленню МНЧ фагоцитами [311] й евакуації разом з клітинним детритом [312]. По-друге, під впливом магнітної сили виникали локальні механічні зміни, збільшення рівнів АФК та АФН, що своєю чергою викликало порушення білкових і ліпідних клітинних структур, апоптоз та некроз у клітинах пухлини з МНЧ. У роботі [313] показано, що параметр жорсткості експериментальної злоякісної пухлини грудної залози НВСх-3 зменшувався зі збільшенням вираженості некрозу та, навпаки, зростав при переважанні фіброзного заміщення тканин пухлини. Крім того, існують відмінності у динаміці зниження модуля Юнга між різними типами загибелі пухлинних клітин (апоптоз, некроптоз, фероптоз) [314]. Більш виражені ознаки автофагії у відповідь на МНЧ, порівняно з контрольною групою без впливу та дією МНЧ + ПМП, були пов'язані з механічними змінами пухлинних клітин, а саме цитоскелету й адгезійних молекул у позаклітинному матриксі, та змінами транспорту автофагосом і лізосом [315].

5.3. Магнітно-резонансна візуалізація карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітного нанокомпозиту та індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем

На **рис. 5.4** представлено типові T_2 -зважені МРТ-зображення карциносаркоми Уокер-256, отримані від тварин-пухлиноносіїв, на яких пухлини характеризувалися неправильною округлою формою з нерівними контурами, гіперінтенсивним сигналом по відношенню до м'язів, неоднорідною структурою з явищами набряку, некрозу та геморагій. У контрольній групі (**рис. 5.4, А**) пухлини мали найменш виражені некротичні зміни та найбільш виражені явища перитуморального набряку. Наявність перитуморального набряку є діагностичним фактором, пов'язаним з реорганізацією позаклітинного матриксу та механохімічними взаємодіями між пухлинними клітинами і їхнім мікрооточенням, що погіршувало прогноз для пацієнтів зі злоякісною пухлиною грудної залози [316], [317]. Комбінований вплив МНК-ДОКС та ІПГ з ПМП (**рис. 5.4, Г**) призводив до більш виражених некротичних змін у пухлині, ніж ДОКС самостійно (**рис. 5.4, Б**) або МНК-ДОКС (**рис. 5.4, В**). Крім того, МРТ-ознаки геморагій спостерігалися більшою мірою у контрольній групі та групі МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП. Останнє можливо пояснити підвищеним тиском інтерстиціальної рідини та механічною компресією під час росту пухлини у тварин, які не отримували лікування, або магнітною силою на МНК-ДОКС у пухлині під впливом ІПГ з ПМП [318], [319].

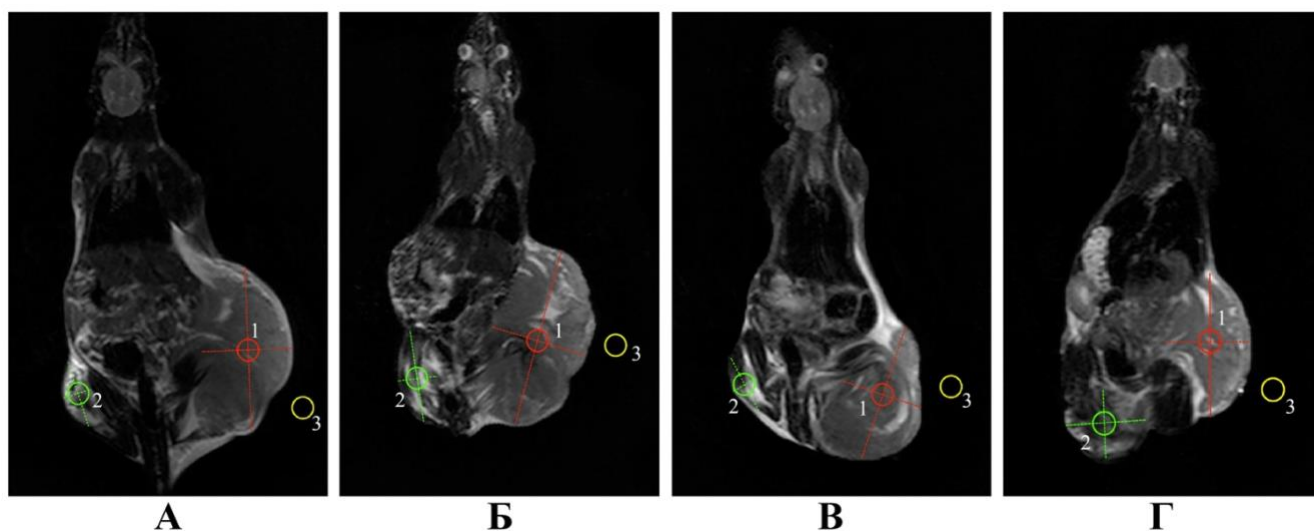


Рис. 5.4. Т₂-зважені МРТ-зображення (корональні зрізи) карциносаркоми Уокер-256 на 18-ту добу після перещеплення: контрольна група (А); ДОКС (Б); МНК-ДОКС (В); МНК-ДОКС + ІІГ + ПМП (Г). Червоним позначено зону інтересу пухлини (1); зеленим – зону інтересу нормальних тканин на протилежній кінцівці (2); жовтим – зону інтересу фону (3).

На **рис. 5.5** наведено результати аналізу гістограм для зон інтересу пухлини на отриманих Т₂-зважених МРТ-зображеннях. Характеристики гістограми ($k_{асиметрії}$ та $k_{ексцесу}$) у зонах інтересу пухлини в контрольній групі продемонстрували найбільші значення, що пов'язано з підвищеною гетерогенністю пухлин і гіршим прогнозом в онкологічних пацієнтів [202]. Зони інтересу пухлини після впливу МНК-ДОКС та МНК-ДОКС + ІІГ + ПМП мали менш гетерогенний розподіл пікселів, аніж у контрольній групі або за самостійного впливу ДОКС. Важливо відмітити, що напрям зміни значень $k_{асиметрії}$ та $k_{ексцесу}$ у цих групах був однаковий. Дія МНК-ДОКС + ІІГ + ПМП призвела до найнижчого абсолютного значення $k_{асиметрії}$ з-поміж інших експериментальних груп. В останньому випадку не можна виключити можливість відповідності розподілу МНК-ДОКС хаотичній структурі пухлини та її мікрооточення під впливом ПМП, що зумовило різницю у $k_{асиметрії}$ зони інтересу пухлини на МРТ-зображеннях.

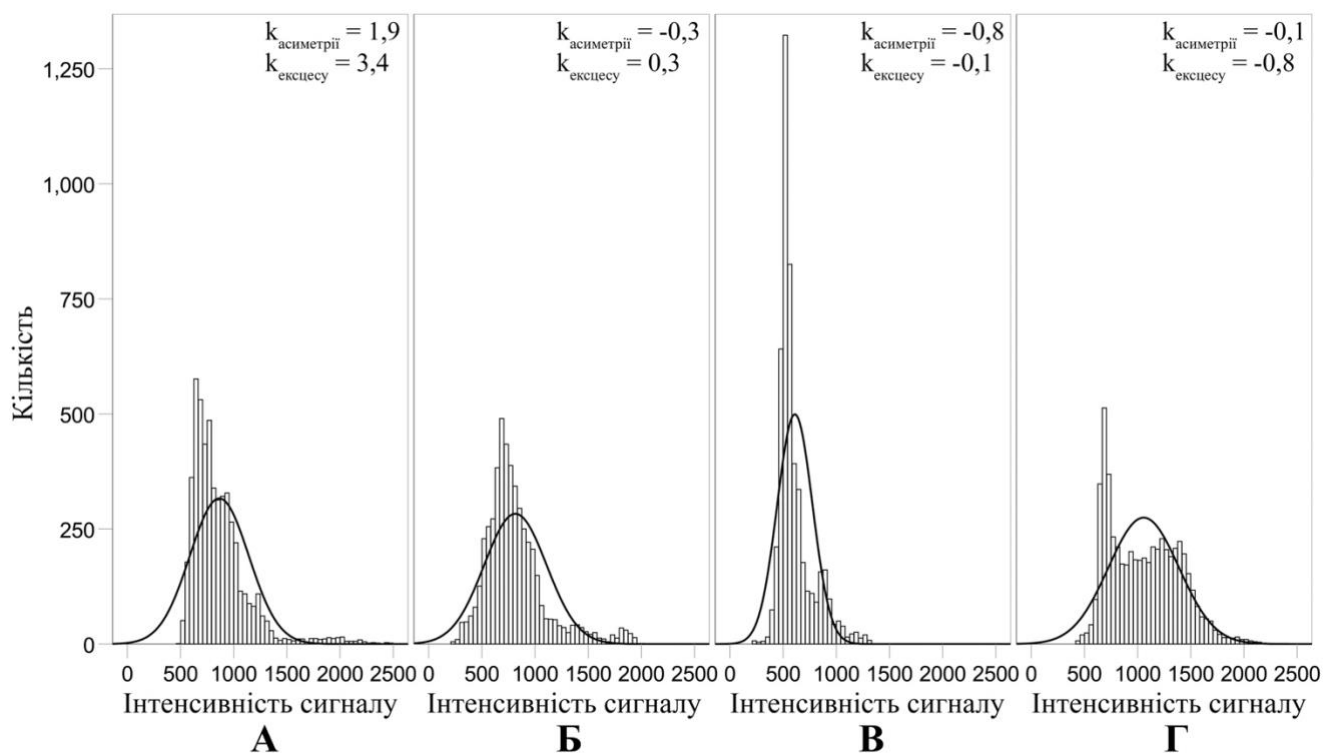


Рис. 5.5. Аналіз гістограм зон інтересу пухлини на T_2 -зважених МРТ-зображеннях: контрольна група (А); ДОКС (Б); МНК-ДОКС (В); МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП (Г).

Кількісний аналіз інтенсивності зон інтересу на T_2 -зважених зображеннях проводили за тестом Крускала – Уолліса. Значення медіани (Me), максимальної (max) та мінімальної (min) інтенсивності пікселів у зонах інтересу наведено в **табл. 5.4**. ДОКС і МНК-ДОКС призводили до меншої медіани інтенсивності як зони інтересу пухлини, так і нормальних тканин у протилежній кінцівці. У відповідь на МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП спостерігалось збільшення медіани інтенсивності зони інтересу пухлини в 1,4 раза порівняно з контрольною групою, в 1,6 раза порівняно з офіційним ДОКС та в 1,8 раза відносно МНК-ДОКС ($p < 0,05$). Контрастність зони інтересу пухлини у групі, яка зазнавала впливу МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП, була в 1,2 раза вищою, ніж у контрольній групі, що узгоджувалося з роботою [320], в якій наноструктури Fe_3O_4 -Au створювали локальну неоднорідність прикладеного поля і тим самим скорочували час спінової релаксації (T_2) протонів водню у пухлині.

Порівняльний аналіз інтенсивності зон інтересу на T₂-зважених МРТ-зображеннях тварин-пухлиноносіїв, Me (max; min)

Група тварин	Пухлина, у.о.	Нормальні тканини, у.о.	Фон, у.о.	Контраст пухлини
Контроль	794,6 (519,4; 2476,7)	1268,4 (130,7; 3997,1)	36,1 (0; 141,0)	21,0
ДОКС	693,4* (285,6; 1358,0)	706,0* (150,9; 2518,5)	41,3* (0; 111,4)	15,8
МНК-ДОКС	609,1*& (217,3; 1333,9)	317,0*& (37,4; 2368,7)	26,7*& (0; 119,3)	21,8
МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП	1110,3*&§ (429,0; 1769,5)	805,6*&§ (154,7; 3945,8)	42,4*&§ (0; 112,3)	25,2

* Статистично значуща різниця при порівнянні з контролем, $p < 0,05$;

& статистично значуща різниця при порівнянні з ДОКС, $p < 0,05$;

§ статистично значуща різниця при порівнянні з МНК-ДОКС, $p < 0,05$.

5.4. Кінетика росту карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітного нанокompозиту та індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем

На **рис. 5.6** показано криві росту карциносаркоми Уокер-256, а у **табл. 5.5** наведено параметри нелінійної кінетики протягом 18 діб після перещеплення. МНК-ДОКС під впливом ІПГ з ПМП продемонстрував найбільш виражене інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256, про що свідчать на 14% та 16% вищі значення коефіцієнта гальмування росту κ порівняно з дією офіціального ДОКС та МНК-ДОКС відповідно. А втім, достовірної різниці між факторами росту у групах, яких піддавали впливу МНК-ДОКС та ДОКС не було виявлено, хоча вони ініціювали відповідно на 12% і 9% нижчі значення фактора росту, ніж контрольна група, яка не зазнавала впливу ($p < 0,05$). Отримані дані

можна було пояснити змінами в кінетиці вільнорадикальних реакцій з утворенням АФК та АФН у відповідь на дію ДОКС, МНК-ДОКС без і з опроміненням.

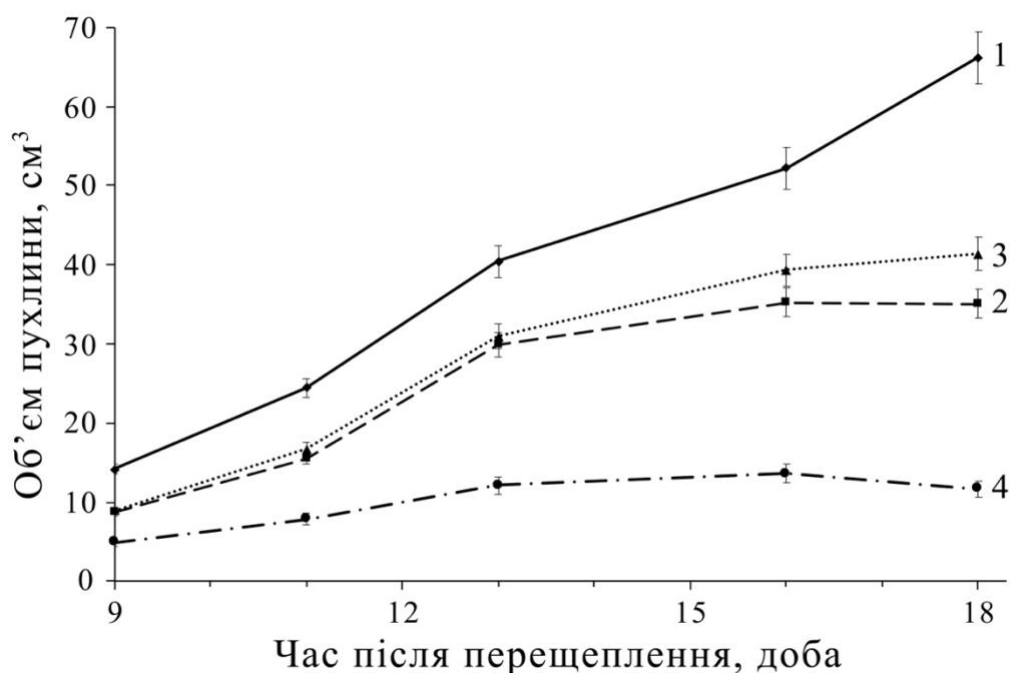


Рис. 5.6. Кінетика росту карциносаркоми Уокер-256 протягом 18-ти днів після перещеплення: 1 – контрольна група (без впливу); 2 – ДОКС; 3 – МНК-ДОКС; 4 – МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП.

Таблиця 5.5

Параметри нелінійної кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 з 1-ої по 18-ту добу після перещеплення, ($M \pm m$)

Група тварин	Фактор росту пухлини (ϕ), доба ⁻¹	Коефіцієнт гальмування росту, κ
Контроль	$0,66 \pm 0,009$	1,00
ДОКС	$0,58 \pm 0,003^*$	1,13
МНК-ДОКС	$0,60 \pm 0,003^*$	1,11
МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП	$0,50 \pm 0,003^{* \& \$}$	1,32

* Статистично значуща різниця при порівнянні з контролем, $p < 0,05$;

& статистично значуща різниця при порівнянні з ДОКС, $p < 0,05$;

§ статистично значуща різниця при порівнянні з МНК-ДОКС, $p < 0,05$.

Раніше було показано, що кінетика росту злоякісних пухлин мала прогностичне значення для онкологічних пацієнтів: пухлини з більшими значеннями фактора росту, як правило, були більш резистентні до хіміотерапії і мали підвищену частоту рецидивів [321].

5.5. ЕПР-спектроскопія карциносаркоми Уокер-256 під впливом магнітного нанокompозиту та індукційної помірної гіпертермії з постійним магнітним полем

Порівняння ЕПР-спектрів і рівнів вільних радикалів, зареєстрованих у карциносаркомі Уокер-256, показано на **рис. 5.7 та 5.8**. ЕПР-сигнали на $g = 2,007$ вказували на те, що спіни неспарених електронів були в триплетному стані. Подальший аналіз спектрів показав, що найвищі рівні вільних радикалів були виміряні в контрольній групі. У результаті впливу МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП різниця у рівні оксиду азоту між пухлиною і м'язовою тканиною протилежної кінцівки не перевищувала 7%. Загалом, ДОКС, МНК-ДОКС і МНК-ДОКС під впливом ІПГ з ПМП ініціювали зниження в середньому на 47% рівня убісеміхінону, супероксидного радикала й оксиду азоту в пухлині порівняно з контрольною групою. МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП ініціювали підвищення рівнів супероксидного радикала в 1,4 раза та убісеміхінону – у 2,1 раза у пухлині відносно офіційного ДОКС ($p < 0,05$). Цікаво, що відмінності в рівнях супероксидного радикала та оксиду азоту між групами узгоджувалися з напрямком змін ступеня перитуморального набряку на МРТ. За даними досліджень [322], [323], це спостереження відображало участь супероксидного радикала й оксиду азоту у неоангіогенезі, вазодилатації і формуванні перитуморального набряку.

Прийнято вважати, що високий рівень вільних радикалів негативно впливає на життєздатність клітин, тоді як на помірних та низьких рівнях вони беруть участь в окисно-відновних (редокс) сигнальних шляхах. Так, було виявлено, що надмірне утворення супероксидного радикала та оксиду азоту швидко призводило до некрозу клітин, на відміну від ініціації апоптозу при помірному окисному стресі

[324], [325], [326]. При фізіологічних рівнях супероксидний радикал та оксид азоту також були пов'язані з сигнальними шляхами, які регулюють ремоделювання, відновлення і регенерацію м'язової тканини [327], [328]. Як і для багатьох процесів у біологічних системах, доцільно було враховувати нелінійність ініціації вільних радикалів у мітохондріях та їхню роль у клітинних реакціях [37]. Вищенаведені аспекти ролі АФК та АФН пояснюють, чому комбінований вплив МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП ініціював помітне зниження рівнів убісеміхінону, супероксидного радикала та оксиду азоту в карциносаркомі Уокер-256.

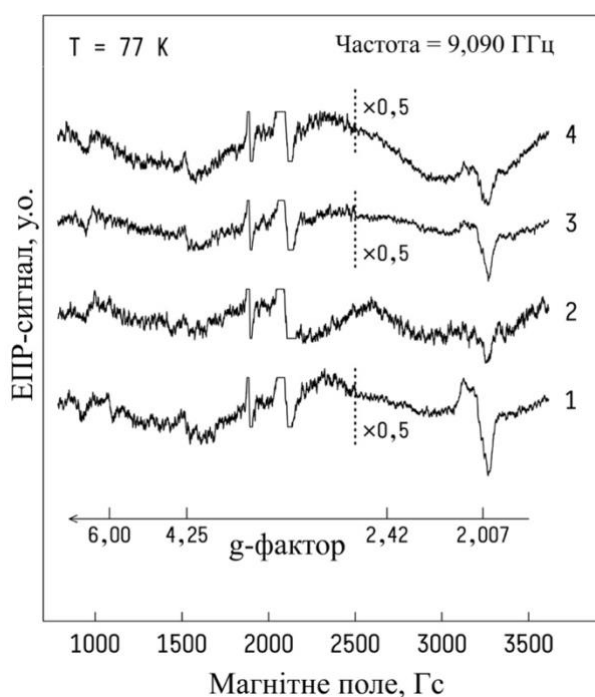


Рис. 5.7. Спектри електронного парамагнітного резонансу, зареєстровані від карциносаркоми Уокер-256 на 18-ту добу після перещеплення: 1 – контрольна група; 2 – ДОКС; 3 – МНК-ДОКС; 4 – МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП.

Оскільки вільні радикали містять неспарені електрони у зовнішній електронній оболонці, вони мають високу реакційну здатність, що дозволяє їм взаємодіяти з більшістю клітинних біополімерів, таких як білки, ДНК і ліпіди. Один із підходів до лікування злоякісних новоутворень передбачає модуляцію рівнів вільних радикалів у пухлині та її мікрооточенні. Наприклад, накопичення ДОКС у пухлинних клітинах призводило до підвищення рівня АФК. ДОКС міг бути

відновлений до свого семіхінонового радикала з допомогою системи цитохрому P450 та електронного транспортного ланцюга в мітохондріях. Семіхінонові радикали мають період напіврозпаду тривалістю декількох діб за температури 37°C і зберігаються як відносно стабільні радикали. При цьому семіхінон слугував донором електронів для молекулярного кисню (O_2), що призводило до утворення супероксиду ($O_2^{\cdot-}$), який, своєю чергою, задіяний в окисно-відновному циклі з утворенням пероксиду водню (H_2O_2) та гідроксильного радикала ($\cdot OH$) [282], [329]. Супероксидний радикал бере участь у регуляції рівня оксиду азоту ($\cdot NO$) та пероксинітриту ($ONOO^-$), останній з яких є потужним і токсичним окиснювачем [330]. ДОКС сприяв перевантаженню мітохондрій залізом через окисно-відновні реакції між іонами Fe^{2+} та Fe^{3+} . Варто додати, що окисно-відновний цикл між Fe^{2+} та Fe^{3+} індукував генерацію гідроксильних радикалів за механізмом реакції Фентона та Габера – Вайса. Отже, окисний стрес був одним із механізмів, запропонованих для пояснення токсичності МНК на основі оксиду заліза [216]. Слід зазначити, що електромагнітне опромінення впливало на кінетику і вихід вільнорадикальних реакцій, призводячи до певного рівня пригнічення росту пухлини [39], [331].

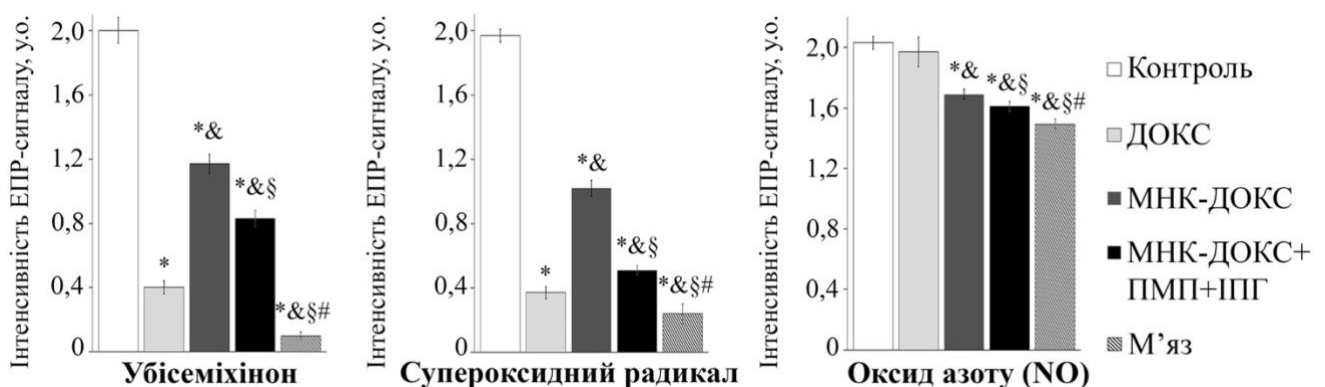


Рис. 5.8. Рівні вільних радикалів у карциносаркомі Уокер-256 на 18-ту добу після перещеплення:

*Статистично значуща різниця при порівнянні з контролем, $p < 0,05$;

& статистично значуща різниця при порівнянні з ДОКС, $p < 0,05$;

§ статистично значуща різниця при порівнянні з МНК-ДОКС, $p < 0,05$;

статистично значуща різниця при порівнянні з МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП, $p < 0,05$.

Ґрунтуючись на роботах [117], [251], магнітно-дипольний аплікатор для ІПГ з ПМП було застосовано з метою цілеспрямованого впливу на розподіл МНК-ДОКС і впливу на вільнорадикальні реакції у пухлині через зміни спін-регульованого транспорту електронів і протонів у мітохондріях. Результати ЕПР та МРТ вказували на можливий взаємозв'язок між процесами переносу електронів і протонів у біохімічних реакціях, що лежали в основі відповіді карциносаркоми Уокер-256 на вплив МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП. Іншими словами, зміни в ЕПР-спектрах та інтенсивності зони інтересу пухлини на МРТ могли бути пов'язані з надтонкою взаємодією між магнітним моментом електрона у вільному радикалі, ініційованому МНК-ДОКС, і спінами ядер атомів ^1H [332]. Останнє знаходить підтвердження у здатності ДОКС та АФК змінювати час релаксації T_2 та інтенсивність зображення при МРТ-візуалізації [333], [334]. Отримані результати є подальшим продовженням експериментів у роботах [335], [336], [337], які зазначають, що наноструктури $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$, навантажені ДОКС, чинять протипухлинний вплив через нетеплові та теплові механізми при застосуванні ЕМП.

Висновки до розділу 5

МНЧ під впливом ПМП із застосуванням магнітно-дипольного аплікатора призводили до інгібування кінетики росту пухлини на 17% у експоненціальній фазі, зниження величини модуля Юнга у пухлині у 2,7 раза за проведенням аналізом УЗЕ-зображень і більш виражених некротичних змін, порівняно з самотійним впливом МНЧ ($p < 0,05$).

МНК-ДОКС під впливом ІПГ та ПМП з використанням магнітно-дипольного аплікатора викликали на 14% і 16% більш виражене інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 у термінальній фазі, ніж офіцинальний ДОКС і МНК-ДОКС відповідно. МРТ-візуалізація виявила більш суттєві некротичні зміни пухлини у відповідь на МНК-ДОКС під впливом ІПГ з ПМП, аніж у контрольній групі, самотійному впливі ДОКС чи МНК-ДОКС. Кількісний аналіз T_2 -зважених МРТ-зображень показав збільшення медіани інтенсивності зони інтересу пухлини після МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП порівняно з контрольною групою (в 1,4 раза), офіцинальним ДОКС (в 1,6 раза) і МНК-ДОКС (в 1,8 раза), $p < 0,05$. Розподіл пікселів у зоні інтересу пухлини мав найменшу абсолютну величину *касиметрії* у групі, яка зазнавала впливу МНК-ДОКС + ІПГ + ПМП. Під впливом ІПГ з ПМП, МНК-ДОКС ініціював підвищення рівнів супероксидного радикала в 1,4 рази та убісеміхінону в 2,1 раза відносно офіцинального ДОКС ($p < 0,05$). МНК-ДОКС під впливом ІПГ з ПМП ініціював зниження рівня вільного радикала оксиду азоту, який був найближчим до рівня у м'язовій тканині протилежної кінцівки тварин-пухлиноносіїв. Виявлені відмінності в рівнях супероксидного радикала та оксиду азоту між експериментальними групами узгоджувалися з напрямком змін ступеня перитуморального набряку на МРТ-візуалізації.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі було розроблено й обґрунтовано застосування біоінженерних засобів з МНЧ для реалізації протипухлинного впливу та радіологічної візуалізації експериментальної злоякісної пухлини. Запропоновано дизайн пристрою для генерації і реєстрації МЛ злоякісних клітин, розроблено фантом грудної залози та застосовано магнітно-дипольний аплікатор для персоналізації магніто-механохімічного ефекту ІПГ з ПМП і МНЧ. Результати проведених досліджень дали змогу зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що інтенсивність МЛ, зареєстрованої з допомогою запропонованого пристрою в клітинах карциносаркоми Уокер-256 у середовищі з МНК під впливом РМП була в 3,5 і 1,4 раза вищою, ніж інтенсивність ХЛ у злоякісних клітинах і середовищі з та без МНК відповідно ($p < 0,05$). Вплив РМП призводив до зменшення абсолютного значення коефіцієнта асиметрії розподілу люмінесцентних сигналів від МНК і злоякісних клітин без та з додаванням МНК. Сигнали МЛ також мали менше значення коефіцієнта варіації і менше відхилення від нормального розподілу, ніж сигнали ХЛ.
2. Розроблений дизайн фантома грудної залози для ІПГ з ПМП і МНЧ надав можливість візуалізувати методами РЦТ та УЗД кластери МНЧ у зоні інтересу пухлини. Результати текстурного аналізу отриманих зображень показали, що застосування ПМП призводило до зниження на 18% гетерогенності просторового розподілу кластерів МНЧ та підвищення в 1,8 раза величини модуля Юнга зони інтересу пухлини зі злоякісними клітинами, ніж за відсутності ПМП ($p < 0,05$).
3. Визначено, що МНЧ під впливом ІПГ з ПМП ініціювали зниження життєздатності злоякісних клітин лінії MCF-7 на 87%, порівняно з впливом без МНЧ ($p < 0,05$). При цьому, підвищення максимальної зареєстрованої температури у зоні інтересу пухлини фантома грудної залози не перевищувало 1,3 °C протягом 30 хвилин опромінення.

4. Продemonстровано, що МНЧ і ПМП з використанням магнітно-дипольного аплікатора призводили до інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 на 17% у експоненціальній фазі та зниження величини модуля Юнга в пухлині у 2,7 раза за проведенням аналізом УЗЕ-зображень, а також більш виражених некротичних змін, порівняно з самотійним впливом МНЧ ($p < 0,05$).
5. Текстурний аналіз T_2 -зважених зображень, отриманих при МРТ-візуалізації тварин-пухлиноносіїв, засвідчив збільшення в 1,6 раза медіани інтенсивності та менше абсолютне значення коефіцієнта асиметрії зони інтересу карциносаркоми Уокер-256 після комбінованого впливу ІПГ, ПМП з застосуванням магнітно-дипольного аплікатора й МНК-ДОКС, порівняно з самотійним впливом офіціального ДОКС ($p < 0,05$).
6. Показано, що після комбінованого впливу ІПГ, ПМП із застосуванням магнітно-дипольного аплікатора й МНК-ДОКС було зареєстровано підвищення рівнів супероксидного радикала в 1,4 раза та убісеміхінону у 2,1 раза, а також зниження рівня вільного радикала оксиду азоту в 1,2 раза у пухлині відносно самотійного впливу офіціального ДОКС ($p < 0,05$).
7. Доведено, що комбінований вплив ІПГ, ПМП з застосуванням магнітно-дипольного аплікатора та МНК-ДОКС викликав на 14% більш виражене інгібування кінетики росту карциносаркоми Уокер-256 у термінальній фазі, аніж самотійний вплив офіціального ДОКС ($p < 0,05$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] F. Bray *et al.*, “Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 74, no. 3, pp. 229–263, 2024, doi: 10.3322/caac.21834.
- [2] Z. Fedorenko, O. Sumkina, Ye. Gorokh, L. Goulak, and A. Ryzhov, *Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine*, vol. 25. Kyiv, Ukraine: National Cancer Institute of Ukraine. [Online]. Available: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_25/PDF_E/Bull_Eng_25.pdf
- [3] M. Y. Klimanov *et al.*, “Efficacy of Combined Regional Inductive Moderate Hyperthermia and Chemotherapy in Patients With Multiple Liver Metastases From Breast Cancer,” *Technol. Cancer Res. Treat.*, vol. 17, p. 1533033818806003, Oct. 2018, doi: 10.1177/1533033818806003.
- [4] A. Loboda *et al.*, “Efficacy of Combination Neoadjuvant Chemotherapy and Regional Inductive Moderate Hyperthermia in the Treatment of Patients With Locally Advanced Breast Cancer,” *Technol. Cancer Res. Treat.*, vol. 19, p. 1533033820963599, Oct. 2020, doi: 10.1177/1533033820963599.
- [5] J. W. Hand, J. L. Ledda, and N. T. S. Evans, “Considerations of radiofrequency induction heating for localised hyperthermia,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 27, no. 1, p. 1, Jan. 1982, doi: 10.1088/0031-9155/27/1/001.
- [6] J. H. Kim, E. W. Hahn, and P. P. Antich, “Radiofrequency hyperthermia for clinical cancer therapy,” *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, vol. 61, pp. 339–342, Jun. 1982.
- [7] M. M. Paulides, H. Dobsicek Trefna, S. Curto, and D. B. Rodrigues, “Recent technological advancements in radiofrequency- and microwave-mediated hyperthermia for enhancing drug delivery,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 163–164, pp. 3–18, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.addr.2020.03.004.
- [8] C. Naud *et al.*, “Cancer treatment by magneto-mechanical effect of particles, a review,” *Nanoscale Adv.*, vol. 2, no. 9, pp. 3632–3655, Sep. 2020, doi: 10.1039/D0NA00187B.
- [9] P. Chandrasekharan *et al.*, “Using magnetic particle imaging systems to localize and guide magnetic hyperthermia treatment: tracers, hardware, and future medical

- applications,” *Theranostics*, vol. 10, no. 7, pp. 2965–2981, Feb. 2020, doi: 10.7150/thno.40858.
- [10] J. Mazarío, S. Ghosh, V. Varela-Izquierdo, L. M. Martínez-Prieto, and B. Chaudret, “Magnetic Nanoparticles and Radio Frequency Induction: From Specific Heating to Magnetically Induced Catalysis,” *ChemCatChem*, no. e202400683, doi: 10.1002/cctc.202400683.
- [11] J.-H. Lee, J. Kim, and J. Cheon, “Magnetic Nanoparticles for Multi-Imaging and Drug Delivery,” *Mol. Cells*, vol. 35, no. 4, pp. 274–284, Apr. 2013, doi: 10.1007/s10059-013-0103-0.
- [12] P. Wust, U. Stein, and P. Ghadjar, “Non-thermal membrane effects of electromagnetic fields and therapeutic applications in oncology,” *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Group*, vol. 38, no. 1, pp. 715–731, 2021, doi: 10.1080/02656736.2021.1914354.
- [13] R. Defrin, M. Shachal-Shiffer, M. Hadgadg, and C. Peretz, “Quantitative somatosensory testing of warm and heat-pain thresholds: the effect of body region and testing method,” *Clin. J. Pain*, vol. 22, no. 2, pp. 130–136, Feb. 2006, doi: 10.1097/01.ajp.0000154048.68273.d8.
- [14] N. Moshina *et al.*, “Breast compression and reported pain during mammographic screening,” *Radiogr. Lond. Engl. 1995*, vol. 26, no. 2, pp. 133–139, May 2020, doi: 10.1016/j.radi.2019.10.003.
- [15] Y. I. Golovin *et al.*, “Non-Heating Alternating Magnetic Field Nanomechanical Stimulation of Biomolecule Structures via Magnetic Nanoparticles as the Basis for Future Low-Toxic Biomedical Applications,” *Nanomaterials*, vol. 11, no. 9, p. 2255, Aug. 2021, doi: 10.3390/nano11092255.
- [16] R. Sever and J. S. Brugge, “Signal Transduction in Cancer,” *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 5, no. 4, p. a006098, Jan. 2015, doi: 10.1101/cshperspect.a006098.
- [17] J. C. Tung *et al.*, “Tumor mechanics and metabolic dysfunction,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 79, pp. 269–280, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.020.

- [18] D. Kilinc, C. L. Dennis, and G. U. Lee, “Bio-Nano-Magnetic Materials for Localized Mechanochemical Stimulation of Cell Growth and Death,” *Adv. Mater.*, vol. 28, no. 27, pp. 5672–5680, 2016, doi: 10.1002/adma.201504845.
- [19] L. Chen, C. Chen, P. Wang, and T. Song, “Mechanisms of Cellular Effects Directly Induced by Magnetic Nanoparticles under Magnetic Fields,” *J. Nanomater.*, vol. 2017, no. 1, p. 1564634, 2017, doi: 10.1155/2017/1564634.
- [20] F. Cramer, *Chaos and order: The complex structure of living systems*. Weinheim ; New York: VCH, 1993.
- [21] R. F. Fox, “Chaos, molecular fluctuations, and the correspondence limit,” *Phys. Rev. A*, vol. 41, no. 6, pp. 2969–2976, 1990, doi: 10.1103/PhysRevA.41.2969.
- [22] J. W. Baish and R. K. Jain, “Fractals and Cancer,” *Cancer Res.*, vol. 60, no. 14, pp. 3683–3688, Jul. 2000.
- [23] J. J. Frost, K. J. Pienta, and D. S. Coffey, “Symmetry and symmetry breaking in cancer: a foundational approach to the cancer problem,” *Oncotarget*, vol. 9, no. 14, pp. 11429–11440, Feb. 2018, doi: 10.18632/oncotarget.22939.
- [24] N. McGranahan and C. Swanton, “Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future,” *Cell*, vol. 168, no. 4, pp. 613–628, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.cell.2017.01.018.
- [25] G. H. Heppner, “Tumor Heterogeneity,” *Cancer Res.*, vol. 44, no. 6, pp. 2259–2265, Jun. 1984.
- [26] S. Osinsky, H. Friess, and P. Vaupel, *Tumor hypoxia in the clinical setting*. Kyiv: Akademperiodyka, 2011. Accessed: Nov. 19, 2024. [Online]. Available: <https://doi.org/10.15407/akademperiodyka.169.272>
- [27] A. Szent-Györgyi, “Bioelectronics and cancer,” *J. Bioenerg.*, vol. 4, no. 6, pp. 533–562, Nov. 1973, doi: 10.1007/BF01516207.
- [28] O. L. Gobbo, K. Sjaastad, M. W. Radomski, Y. Volkov, and A. Prina-Mello, “Magnetic Nanoparticles in Cancer Theranostics,” *Theranostics*, vol. 5, no. 11, pp. 1249–1263, Sep. 2015, doi: 10.7150/thno.11544.

- [29] N. B. Day, W. C. Wixson, and C. W. Shields, “Magnetic systems for cancer immunotherapy,” *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 11, no. 8, pp. 2172–2196, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.apsb.2021.03.023.
- [30] S. Yu, H. Zhang, S. Zhang, M. Zhong, and H. Fan, “Ferrite Nanoparticles-Based Reactive Oxygen Species-Mediated Cancer Therapy,” *Front. Chem.*, vol. 9, Apr. 2021, doi: 10.3389/fchem.2021.651053.
- [31] P. Vaupel and A. Mayer, “Tumor Hypoxia: Causative Mechanisms, Microregional Heterogeneities, and the Role of Tissue-Based Hypoxia Markers,” in *Oxygen Transport to Tissue XXXVIII*, vol. 923, Q. Luo, L. Z. Li, D. K. Harrison, H. Shi, and D. F. Bruley, Eds., in *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 923. , Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 77–86. doi: 10.1007/978-3-319-38810-6_11.
- [32] J. D. Martin, D. Fukumura, D. G. Duda, Y. Boucher, and R. K. Jain, “Reengineering the Tumor Microenvironment to Alleviate Hypoxia and Overcome Cancer Heterogeneity,” *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 6, no. 12, p. a027094, Jan. 2016, doi: 10.1101/cshperspect.a027094.
- [33] W. Bottje, N. R. Pumford, C. Ojano-Dirain, M. Iqbal, and K. Lassiter, “Feed Efficiency and Mitochondrial Function,” *Poult. Sci.*, vol. 85, no. 1, pp. 8–14, Jan. 2006, doi: 10.1093/ps/85.1.8.
- [34] S. J. Dixon *et al.*, “Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death,” *Cell*, vol. 149, no. 5, pp. 1060–1072, May 2012, doi: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
- [35] M. J. Morgan and Z. Liu, “Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling,” *Cell Res.*, vol. 21, no. 1, pp. 103–115, Jan. 2011, doi: 10.1038/cr.2010.178.
- [36] C. Braicu *et al.*, “A Comprehensive Review on MAPK: A Promising Therapeutic Target in Cancer,” *Cancers*, vol. 11, no. 10, Art. no. 10, Oct. 2019, doi: 10.3390/cancers11101618.
- [37] J. M. Kembro, S. Cortassa, D. Lloyd, S. J. Sollott, and M. A. Aon, “Mitochondrial chaotic dynamics: Redox-energetic behavior at the edge of stability,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 15422, Oct. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-33582-w.

- [38] L. Kennedy, J. K. Sandhu, M.-E. Harper, and M. Cuperlovic-Culf, “Role of Glutathione in Cancer: From Mechanisms to Therapies,” *Biomolecules*, vol. 10, no. 10, Art. no. 10, Oct. 2020, doi: 10.3390/biom10101429.
- [39] B. Greenebaum and F. Barnes, Eds., *Biological and Medical Aspects of Electromagnetic Fields, Fourth Edition*, 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. doi: 10.1201/9781315186641.
- [40] G. N. Lewis, “The Magnetochemical Theory,” *Chem. Rev.*, vol. 1, no. 2, pp. 231–248, Jul. 1924, doi: 10.1021/cr60002a003.
- [41] L. Pauling, *The Nature of the Chemical Bond*, Third Edition. Cornell University Press, 1960.
- [42] V. E. Orel *et al.*, “The comparison between superparamagnetic and ferromagnetic iron oxide nanoparticles for cancer nanotherapy in the magnetic resonance system,” *Nanotechnology*, vol. 30, no. 41, p. 415701, Jul. 2019, doi: 10.1088/1361-6528/ab2ea7.
- [43] Y. Li, J. Yang, and X. Sun, “Reactive Oxygen Species-Based Nanomaterials for Cancer Therapy,” *Front. Chem.*, vol. 9, Apr. 2021, doi: 10.3389/fchem.2021.650587.
- [44] R. Henkel, “ROS and sperm DNA integrity – Implications of male accessory gland infections,” 2010, pp. 481–488. doi: 10.3109/9781841847474-37.
- [45] J. C. T. Cheung, G. Deng, N. Wong, Y. Dong, and S. S. M. Ng, “More than a duologue: In-depth insights into epitranscriptomics and ferroptosis,” *Front. Cell Dev. Biol.*, vol. 10, Sep. 2022, doi: 10.3389/fcell.2022.982606.
- [46] S. Klein, A. Sommer, L. V. R. Distel, W. Neuhuber, and C. Kryschi, “Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as radiosensitizer via enhanced reactive oxygen species formation,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 425, no. 2, pp. 393–397, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.07.108.
- [47] A. L. Buchachenko, *Magnetic Effects Across Biochemistry, Molecular Biology and Environmental Chemistry: Genes, Brain and Cancer Under Magnetic Control*. London San Diego, CA Cambridge, MA Kidlington, Oxford: Academic Press, 2023.

- [48] P. J. Hore and H. Mouritsen, “The Radical-Pair Mechanism of Magnetoreception,” *Annu. Rev. Biophys.*, vol. 45, no. Volume 45, 2016, pp. 299–344, Jul. 2016, doi: 10.1146/annurev-biophys-032116-094545.
- [49] R. J. Usselman *et al.*, “The Quantum Biology of Reactive Oxygen Species Partitioning Impacts Cellular Bioenergetics,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 38543, Dec. 2016, doi: 10.1038/srep38543.
- [50] V. Zablotskii, T. Polyakova, O. Lunov, and A. Dejneka, “How a High-Gradient Magnetic Field Could Affect Cell Life,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 37407, Nov. 2016, doi: 10.1038/srep37407.
- [51] A. E. Cohen, “Nanomagnetic Control of Intersystem Crossing,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 113, no. 41, pp. 11084–11092, Oct. 2009, doi: 10.1021/jp907113p.
- [52] V. B. Orel *et al.*, “Nanotherapy based on magneto-mechanochemical modulation of tumor redox state,” *WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology*, vol. 15, no. 3, p. e1868, 2023, doi: 10.1002/wnan.1868.
- [53] F. Broders-Bondon, T. H. Nguyen Ho-Boulidoires, M.-E. Fernandez-Sanchez, and E. Farge, “Mechanotransduction in tumor progression: The dark side of the force,” *J. Cell Biol.*, vol. 217, no. 5, pp. 1571–1587, May 2018, doi: 10.1083/jcb.201701039.
- [54] S. J. P. Pratt *et al.*, “Mechanoactivation of NOX2-generated ROS elicits persistent TRPM8 Ca²⁺ signals that are inhibited by oncogenic KRas,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 117, no. 42, pp. 26008–26019, Oct. 2020, doi: 10.1073/pnas.2009495117.
- [55] H. Y. Murad *et al.*, “Phenotypic alterations in liver cancer cells induced by mechanochemical disruption,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 19538, Dec. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-55920-2.
- [56] M. I. Brier *et al.*, “Uncovering a possible role of reactive oxygen species in magnetogenetics,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, p. 13096, Aug. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-70067-1.
- [57] G. R. Kirkham *et al.*, “Hyperpolarization of human mesenchymal stem cells in response to magnetic force,” *IEEE Trans. Nanobioscience*, vol. 9, no. 1, pp. 71–74, Mar. 2010, doi: 10.1109/TNB.2010.2042065.

- [58] R. J. Mannix *et al.*, “Nanomagnetic actuation of receptor-mediated signal transduction,” *Nat. Nanotechnol.*, vol. 3, no. 1, pp. 36–40, Jan. 2008, doi: 10.1038/nnano.2007.418.
- [59] E. Zhang, M. F. Kircher, M. Koch, L. Eliasson, S. N. Goldberg, and E. Renström, “Dynamic Magnetic Fields Remote-Control Apoptosis via Nanoparticle Rotation,” *ACS Nano*, vol. 8, no. 4, pp. 3192–3201, Apr. 2014, doi: 10.1021/nn406302j.
- [60] A. K. Hauser, R. J. Wydra, N. A. Stocke, K. W. Anderson, and J. Z. Hilt, “Magnetic nanoparticles and nanocomposites for remote controlled therapies,” *J. Controlled Release*, vol. 219, pp. 76–94, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.09.039.
- [61] S. Lopez *et al.*, “Magneto-mechanical destruction of cancer-associated fibroblasts using ultra-small iron oxide nanoparticles and low frequency rotating magnetic fields,” *Nanoscale Adv.*, vol. 4, no. 2, pp. 421–436, Jan. 2022, doi: 10.1039/D1NA00474C.
- [62] J. Wu *et al.*, “Programmable ROS-Mediated Cancer Therapy via Magneto-Inductions,” *Adv. Sci.*, vol. 7, no. 12, p. 1902933, 2020, doi: 10.1002/advs.201902933.
- [63] M. Proietto *et al.*, “Tumor heterogeneity: preclinical models, emerging technologies, and future applications,” *Front. Oncol.*, vol. 13, p. 1164535, Apr. 2023, doi: 10.3389/fonc.2023.1164535.
- [64] S. Garcia-Manyes and A. E. M. Beedle, “Steering chemical reactions with force,” *Nat. Rev. Chem.*, vol. 1, no. 11, p. 0083, Nov. 2017, doi: 10.1038/s41570-017-0083.
- [65] S. Boroun and F. Larachi, “Role of magnetic nanoparticles in mixing, transport phenomena and reaction engineering — challenges and opportunities,” *Curr. Opin. Chem. Eng.*, vol. 13, pp. 91–99, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.coche.2016.08.011.
- [66] J. R. Henstock, M. Rotherham, H. Rashidi, K. M. Shakesheff, and A. J. El Haj, “Remotely Activated Mechanotransduction via Magnetic Nanoparticles Promotes Mineralization Synergistically With Bone Morphogenetic Protein 2: Applications for Injectable Cell Therapy,” *STEM CELLS Transl. Med.*, vol. 3, no. 11, pp. 1363–1374, 2014, doi: 10.5966/sctm.2014-0017.

- [67] G. M. Edelman, “Topobiology,” *Sci. Am.*, vol. 260, no. 5, pp. 76–82, 84–86, 88, May 1989, doi: 10.1038/scientificamerican0589-76.
- [68] V. B. Orel *et al.*, “Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells induced by magneto-mechanochemical effects of Fe₃O₄–Au nanocomposite,” *J. Mech. Med. Biol.*, vol. 23, no. 06, p. 2340027, Aug. 2023, doi: 10.1142/S0219519423400274.
- [69] V. E. Orel *et al.*, “Spatial and mechanoemission chaos of mechanically deformed tumor cells,” *J. Mech. Med. Biol.*, vol. 04, no. 01, pp. 31–45, Mar. 2004, doi: 10.1142/S0219519404000886.
- [70] Q. Deng, L. Liu, and P. Sharma, “Flexoelectricity in soft materials and biological membranes,” *J. Mech. Phys. Solids*, vol. 62, pp. 209–227, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.jmps.2013.09.021.
- [71] S. Sudersan and A. Arockiarajan, “Effects of Flexoelectricity and Surface Elasticity on the Nonlinear Magnetoelectric Coupling in Unsymmetric Composites,” *IEEE Trans. Magn.*, vol. 56, no. 6, pp. 1–11, Jun. 2020, doi: 10.1109/TMAG.2020.2984988.
- [72] L. P. Liu and P. Sharma, “Flexoelectricity and thermal fluctuations of lipid bilayer membranes: Renormalization of flexoelectric, dielectric, and elastic properties,” *Phys. Rev. E*, vol. 87, no. 3, p. 032715, Mar. 2013, doi: 10.1103/PhysRevE.87.032715.
- [73] K. Perica, A. Tu, A. Richter, J. G. Bieler, M. Edidin, and J. P. Schneck, “Magnetic Field-Induced T Cell Receptor Clustering by Nanoparticles Enhances T Cell Activation and Stimulates Antitumor Activity,” *ACS Nano*, vol. 8, no. 3, pp. 2252–2260, Mar. 2014, doi: 10.1021/nn405520d.
- [74] G. Hannon, F. L. Tansi, I. Hilger, and A. Prina-Mello, “The Effects of Localized Heat on the Hallmarks of Cancer,” *Adv. Ther.*, vol. 4, no. 7, p. 2000267, 2021, doi: 10.1002/adtp.202000267.
- [75] M. W. Dewhirst, C.-T. Lee, and K. A. Ashcraft, “The future of biology in driving the field of hyperthermia,” *Int. J. Hyperthermia*, vol. 32, no. 1, pp. 4–13, Jan. 2016, doi: 10.3109/02656736.2015.1091093.

- [76] H. Fatima, T. Charinpanitkul, and K.-S. Kim, “Fundamentals to Apply Magnetic Nanoparticles for Hyperthermia Therapy,” *Nanomaterials*, vol. 11, no. 5, Art. no. 5, May 2021, doi: 10.3390/nano11051203.
- [77] H. Gavilán *et al.*, “Magnetic nanoparticles and clusters for magnetic hyperthermia: optimizing their heat performance and developing combinatorial therapies to tackle cancer,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 50, no. 20, pp. 11614–11667, Oct. 2021, doi: 10.1039/D1CS00427A.
- [78] J. B. Tracy and T. M. Crawford, “Magnetic field-directed self-assembly of magnetic nanoparticles,” *MRS Bull.*, vol. 38, no. 11, pp. 915–920, Nov. 2013, doi: 10.1557/mrs.2013.233.
- [79] K. Murase, H. Takata, Y. Takeuchi, and S. Saito, “Control of the temperature rise in magnetic hyperthermia with use of an external static magnetic field,” *Phys. Medica PM Int. J. Devoted Appl. Phys. Med. Biol. Off. J. Ital. Assoc. Biomed. Phys. AIFB*, vol. 29, no. 6, pp. 624–630, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.ejmp.2012.08.005.
- [80] H. Wang *et al.*, “Research progress on electromagnetic wave absorption based on magnetic metal oxides and their composites,” *Adv. Compos. Hybrid Mater.*, vol. 6, no. 3, p. 120, Jun. 2023, doi: 10.1007/s42114-023-00694-5.
- [81] J. G. Harrison and L. Rast, “Computational Modeling of Electromagnetically Induced Heating of Magnetic Nanoparticle Materials for Hyperthermic Cancer Treatment,” *TechConnect Briefs*, vol. 3, no. 2010, pp. 510–513, Jun. 2010.
- [82] C. F. Chyba, K. P. Hand, and P. J. Thomas, “Magnetic induction heating of planetary satellites: Analytical formulae and applications,” *Icarus*, vol. 360, p. 114360, May 2021, doi: 10.1016/j.icarus.2021.114360.
- [83] R. J. Wydra, C. E. Oliver, K. W. Anderson, T. D. Dziubla, and J. Z. Hilt, “Accelerated generation of free radicals by iron oxide nanoparticles in the presence of an alternating magnetic field,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 24, pp. 18888–18893, Feb. 2015, doi: 10.1039/C4RA13564D.
- [84] H. Wu, L. Liu, L. Song, M. Ma, N. Gu, and Y. Zhang, “Enhanced Tumor Synergistic Therapy by Injectable Magnetic Hydrogel Mediated Generation of Hyperthermia and

- Highly Toxic Reactive Oxygen Species,” *ACS Nano*, vol. 13, no. 12, pp. 14013–14023, Dec. 2019, doi: 10.1021/acsnano.9b06134.
- [85] B. P. Chandra, “Mechanoluminescence,” in *Luminescence of Solids*, D. R. Vij, Ed., Boston, MA: Springer US, 1998, pp. 361–389. doi: 10.1007/978-1-4615-5361-8_10.
- [86] B. P. Chandra, V. K. Chandra, and P. Jha, “Piezoelectrically-induced trap-depth reduction model of elastico-mechanoluminescent materials,” *Phys. B Condens. Matter*, vol. 461, pp. 38–48, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.physb.2014.12.007.
- [87] Z. Monette, A. K. Kasar, and P. L. Menezes, “Advances in triboluminescence and mechanoluminescence,” *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, vol. 30, no. 22, pp. 19675–19690, Nov. 2019, doi: 10.1007/s10854-019-02369-8.
- [88] F. T. Freund, “Nature of the Electronic Charge Carriers Involved in Triboluminescence,” in *Triboluminescence: Theory, Synthesis, and Application*, D. O. Olawale, O. O. I. Okoli, R. S. Fontenot, and W. A. Hollerman, Eds., Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 17–37. doi: 10.1007/978-3-319-38842-7_2.
- [89] Y. Xie and Z. Li, “The development of mechanoluminescence from organic compounds: breakthrough and deep insight,” *Mater. Chem. Front.*, vol. 4, no. 2, pp. 317–331, Feb. 2020, doi: 10.1039/C9QM00580C.
- [90] W. Wang *et al.*, “Ultrasound triggered organic mechanoluminescence materials,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 186, p. 114343, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.addr.2022.114343.
- [91] V. Orel, *Triboluminescence as a biological phenomenon and methods for its investigation*, Ksiaz Castle, Wroclaw, Poland. 1989. doi: 10.13140/RG.2.1.2298.5443.
- [92] J. Slawinski *et al.*, “Stress-induced photon emission from perturbed organisms,” *Experientia*, vol. 48, no. 11, pp. 1041–1058, Dec. 1992, doi: 10.1007/BF01947992.
- [93] Y. Yang and Z. Liu, “Chemiluminescent Nanosystems for Imaging Cancer Chemodynamic Therapy,” *Chem*, vol. 6, no. 9, pp. 2127–2129, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.chempr.2020.08.013.

- [94] R. van Wijk and J. M. van Aken, "Photon emission in tumor biology," *Experientia*, vol. 48, no. 11, pp. 1092–1102, Dec. 1992, doi: 10.1007/BF01947996.
- [95] L. Sodomka, *Mechanoluminescence a její použití*. Praha: Academia, 1985.
- [96] V. É. Orel, N. N. Dzyatkovskaya, I. N. Kadyuk, and Yu. I. Mel'nik, "Physical principles and technique for studying mechanochemical emission of blood," *Biomed. Eng.*, vol. 26, no. 6, pp. 334–335, Nov. 1992, doi: 10.1007/BF00557118.
- [97] V. É. Orel, Ya. Z. Popov, E. K. Goraiskii, I. V. Leshchinskii, and D. M. Khazanovich, "TRA-2 triboluminometer for rapid blood peroxide oxidation analysis," *Biomed. Eng.*, vol. 23, no. 4, pp. 146–149, Jul. 1989, doi: 10.1007/BF00560748.
- [98] V. E. Orel, S. B. Alekseyev, and Y. A. Grinevich, "Mechanoluminescence: An assay for lymphocyte analysis in neoplasia," *J. Biolumin. Chemilumin.*, vol. 7, no. 4, pp. 239–244, 1992, doi: 10.1002/bio.1170070403.
- [99] V. E. Orel, A. V. Romanov, N. N. Dzyatkovskaya, and I. Mel'nik, "The device and algorithm for estimation of the mechanoemission chaos in blood of patients with gastric cancer," *Med. Eng. Phys.*, vol. 24, no. 5, pp. 365–371, Jun. 2002, doi: 10.1016/S1350-4533(02)00022-X.
- [100] B. P. Chandra, "Mechanoluminescence of Nanoparticles," *Open Nanosci. J.*, vol. 5, pp. 45–58, 2011.
- [101] S. W. Shin *et al.*, "Origin of Mechanoluminescence from Cu-Doped ZnS Particles Embedded in an Elastomer Film and Its Application in Flexible Electro-mechanoluminescent Lighting Devices," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 8, no. 2, pp. 1098–1103, Jan. 2016, doi: 10.1021/acsami.5b07594.
- [102] Z. Huang *et al.*, "Tuning mechanoluminescent long-afterglow composites toward mechanical energy lighting," *J. Mater. Sci.*, vol. 57, no. 46, pp. 21378–21391, Dec. 2022, doi: 10.1007/s10853-022-07965-4.
- [103] C. S. Hansel *et al.*, "Nanoneedle-Mediated Stimulation of Cell Mechanotransduction Machinery," *ACS Nano*, vol. 13, no. 3, pp. 2913–2926, Mar. 2019, doi: 10.1021/acsnano.8b06998.

- [104] H. Wolfenson, B. Yang, and M. P. Sheetz, “Steps in Mechanotransduction Pathways that Control Cell Morphology,” *Annu. Rev. Physiol.*, vol. 81, pp. 585–605, Feb. 2019, doi: 10.1146/annurev-physiol-021317-121245.
- [105] R. K. Jain, J. D. Martin, and T. Stylianopoulos, “The role of mechanical forces in tumor growth and therapy,” *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 16, pp. 321–346, Jul. 2014, doi: 10.1146/annurev-bioeng-071813-105259.
- [106] S. Mourdikoudis, R. M. Pallares, and N. T. K. Thanh, “Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties,” *Nanoscale*, vol. 10, no. 27, pp. 12871–12934, Jul. 2018, doi: 10.1039/C8NR02278J.
- [107] C. L. Drennan and J. W. Peters, “Surprising cofactors in metalloenzymes,” *Curr. Opin. Struct. Biol.*, vol. 13, no. 2, pp. 220–226, Apr. 2003, doi: 10.1016/S0959-440X(03)00038-1.
- [108] L. M. Bystrom and S. Rivella, “Cancer cells with irons in the fire,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 79, pp. 337–342, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.04.035.
- [109] B. Hassannia, P. Vandenabeele, and T. V. Berghe, “Targeting Ferroptosis to Iron Out Cancer,” *Cancer Cell*, vol. 35, no. 6, pp. 830–849, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.ccell.2019.04.002.
- [110] V. Orel *et al.*, “Magnetic properties and antitumor effect of nanocomplexes of iron oxide and doxorubicin,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 11, no. 1, pp. 47–55, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.nano.2014.07.007.
- [111] A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, and T. Kobayashi, “Heat-inducible TNF- α gene therapy combined with hyperthermia using magnetic nanoparticles as a novel tumor-targeted therapy,” *Cancer Gene Ther.*, vol. 8, no. 9, pp. 649–654, Sep. 2001, doi: 10.1038/sj.cgt.7700357.
- [112] G. K. Thirunavukkarasu, K. Cherukula, H. Lee, Y. Y. Jeong, I.-K. Park, and J. Y. Lee, “Magnetic field-inducible drug-eluting nanoparticles for image-guided thermo-chemotherapy,” *Biomaterials*, vol. 180, pp. 240–252, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.028.

- [113] J. Shen, T. W. Rees, Z. Zhou, S. Yang, L. Ji, and H. Chao, “A mitochondria-targeting magnetothermogenic nanozyme for magnet-induced synergistic cancer therapy,” *Biomaterials*, vol. 251, p. 120079, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120079.
- [114] A. G. Kolhatkar, A. C. Jamison, D. Litvinov, R. C. Willson, and T. R. Lee, “Tuning the Magnetic Properties of Nanoparticles,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 8, Art. no. 8, Aug. 2013, doi: 10.3390/ijms140815977.
- [115] M. Y. Razzaq, M. Behl, and A. Lendlein, “Memory-effects of magnetic nanocomposites,” *Nanoscale*, vol. 4, no. 20, pp. 6181–6195, Sep. 2012, doi: 10.1039/C2NR31332D.
- [116] K. S. Kim *et al.*, “Stimuli-responsive magnetic nanoparticles for tumor-targeted bimodal imaging and photodynamic/hyperthermia combination therapy,” *Nanoscale*, vol. 8, no. 22, pp. 11625–11634, Jun. 2016, doi: 10.1039/C6NR02273A.
- [117] V. E. Orel *et al.*, “Nanomagnetic Modulation of Tumor Redox State,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 14, no. 4, pp. 1249–1256, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.nano.2018.03.002.
- [118] J. F. Schenck, “Physical interactions of static magnetic fields with living tissues,” *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 87, no. 2, pp. 185–204, Feb. 2005, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2004.08.009.
- [119] D. W. Wong, W. L. Gan, Y. K. Teo, and W. S. Lew, “Interplay of cell death signaling pathways mediated by alternating magnetic field gradient,” *Cell Death Discov.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–9, Apr. 2018, doi: 10.1038/s41420-018-0052-7.
- [120] B. Yu, B. Choi, W. Li, and D.-H. Kim, “Magnetic field boosted ferroptosis-like cell death and responsive MRI using hybrid vesicles for cancer immunotherapy,” *Nat. Commun.*, vol. 11, no. 1, p. 3637, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41467-020-17380-5.
- [121] O. Lunov *et al.*, “Remote Actuation of Apoptosis in Liver Cancer Cells via Magneto-Mechanical Modulation of Iron Oxide Nanoparticles,” *Cancers*, vol. 11, no. 12, Art. no. 12, Dec. 2019, doi: 10.3390/cancers11121873.

- [122] H. Zeng and S. Sun, “Syntheses, Properties, and Potential Applications of Multicomponent Magnetic Nanoparticles,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 18, no. 3, pp. 391–400, Feb. 2008, doi: 10.1002/adfm.200701211.
- [123] T. Labouret, J.-F. Audibert, R. B. Pansu, and B. Palpant, “Plasmon-Assisted Production of Reactive Oxygen Species by Single Gold Nanorods,” *Small*, vol. 11, no. 35, pp. 4475–4479, Sep. 2015, doi: 10.1002/smll.201500509.
- [124] X. Chao *et al.*, “A Novel Magnetic Nanoparticle Drug Carrier for Enhanced Cancer Chemotherapy,” *PLOS ONE*, vol. 7, no. 10, p. e40388, Oct. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0040388.
- [125] K. Aljarrah *et al.*, “Magnetic nanoparticles sensitize MCF-7 breast cancer cells to doxorubicin-induced apoptosis,” *World J. Surg. Oncol.*, vol. 10, no. 1, p. 62, Apr. 2012, doi: 10.1186/1477-7819-10-62.
- [126] C.-S. Chiang, Y.-S. Shen, J.-J. Liu, W.-C. Shyu, and S.-Y. Chen, “Synergistic Combination of Multistage Magnetic Guidance and Optimized Ligand Density in Targeting a Nanoplatfrom for Enhanced Cancer Therapy,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 5, no. 16, pp. 2131–2141, 2016, doi: 10.1002/adhm.201600479.
- [127] P.-C. Liang *et al.*, “Doxorubicin-modified magnetic nanoparticles as a drug delivery system for magnetic resonance imaging-monitoring magnet-enhancing tumor chemotherapy,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 11, pp. 2021–2037, May 2016, doi: 10.2147/IJN.S94139.
- [128] L. P. Ganipineni *et al.*, “Magnetic targeting of paclitaxel-loaded poly(lactic-co-glycolic acid)-based nanoparticles for the treatment of glioblastoma,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, p. 4509, Aug. 2018, doi: 10.2147/IJN.S165184.
- [129] R. Brossel, A. Yahi, S. David, L. M. Velasquez, and J.-M. Guinebretière, “Mechanical Signals Inhibit Growth of a Grafted Tumor In Vivo: Proof of Concept,” *PLOS ONE*, vol. 11, no. 4, p. e0152885, Apr. 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0152885.
- [130] J. F. Liu *et al.*, “Use of Oppositely Polarized External Magnets To Improve the Accumulation and Penetration of Magnetic Nanocarriers into Solid Tumors,” *ACS Nano*, vol. 14, no. 1, pp. 142–152, Jan. 2020, doi: 10.1021/acsnano.9b05660.

- [131] S. Pshenichnikov *et al.*, “Control of oxidative stress in Jurkat cells as a model of leukemia treatment,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 523, p. 167623, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.jmmm.2020.167623.
- [132] J. Alexandre, Y. Hu, W. Lu, H. Pelicano, and P. Huang, “Novel Action of Paclitaxel against Cancer Cells: Bystander Effect Mediated by Reactive Oxygen Species,” *Cancer Res.*, vol. 67, no. 8, pp. 3512–3517, Apr. 2007, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3914.
- [133] C. F. Thorn *et al.*, “Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 21, no. 7, p. 440, Jul. 2011, doi: 10.1097/FPC.0b013e32833ffb56.
- [134] D. Chang *et al.*, “Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations,” *Front. Pharmacol.*, vol. 9, Aug. 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.00831.
- [135] Y. Shen *et al.*, “Elongated Nanoparticle Aggregates in Cancer Cells for Mechanical Destruction with Low Frequency Rotating Magnetic Field,” *Theranostics*, vol. 7, no. 6, pp. 1735–1748, Apr. 2017, doi: 10.7150/thno.18352.
- [136] A. Singh and S. K. Sahoo, “Magnetic nanoparticles: a novel platform for cancer theranostics,” *Drug Discov. Today*, vol. 19, no. 4, pp. 474–481, Apr. 2014, doi: 10.1016/j.drudis.2013.10.005.
- [137] H. Chen, W. Zhang, G. Zhu, J. Xie, and X. Chen, “Rethinking cancer nanotheranostics,” *Nat. Rev. Mater.*, vol. 2, no. 7, pp. 1–18, May 2017, doi: 10.1038/natrevmats.2017.24.
- [138] J. Estelrich, M. J. Sánchez-Martín, and M. A. Busquets, “Nanoparticles in magnetic resonance imaging: from simple to dual contrast agents,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 10, no. 1, pp. 1727–1741, Mar. 2015, doi: 10.2147/IJN.S76501.
- [139] H. Wang *et al.*, “Molecular Magnetic Resonance Imaging Using a Redox-Active Iron Complex,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 141, no. 14, pp. 5916–5925, Apr. 2019, doi: 10.1021/jacs.9b00603.
- [140] A. G. Robertson and L. M. Rendina, “Gadolinium theranostics for the diagnosis and treatment of cancer,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 50, no. 7, pp. 4231–4244, Apr. 2021, doi: 10.1039/D0CS01075H.

- [141] M. Rogosnitzky and S. Branch, “Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms,” *BioMetals*, vol. 29, no. 3, pp. 365–376, Jun. 2016, doi: 10.1007/s10534-016-9931-7.
- [142] P. Chanana *et al.*, “The Effect of Magnetic Field Gradient and Gadolinium-Based MRI Contrast Agent Dotarem on Mouse Macrophages,” *Cells*, vol. 11, no. 5, Art. no. 5, Jan. 2022, doi: 10.3390/cells11050757.
- [143] V. E. Orel *et al.*, “Magnetic theranostics of Lewis lung carcinoma with the complex of gadopentetate dimeglumine and doxorubicin,” *Dopov. Nac. akad. nauk Ukr.*, no. 9, pp. 134–142, 2016, doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2016.09.134>.
- [144] V. B. Orel *et al.*, “Texture Analysis of T1-weighted and STIR Magnetic Resonance Images For Lewis Lung Carcinoma Nanotheranostics,” in *Proceedings of 2022 IEEE XXXXI International Scientific Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Oct. 2022, pp. 314–317. doi: 10.1109/ELNANO54667.2022.9927034.
- [145] X. Yin *et al.*, “Large T1 contrast enhancement using superparamagnetic nanoparticles in ultra-low field MRI,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 11863, Aug. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-30264-5.
- [146] H. Eguchi *et al.*, “A magnetic anti-cancer compound for magnet-guided delivery and magnetic resonance imaging,” *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 9194, Mar. 2015, doi: 10.1038/srep09194.
- [147] Y. Liu *et al.*, “Magnet-activatable nanoliposomes as intracellular bubble microreactors to enhance drug delivery efficacy and burst cancer cells,” *Nanoscale*, vol. 11, no. 40, pp. 18854–18865, Oct. 2019, doi: 10.1039/C9NR07021D.
- [148] V. Orel *et al.*, “Imaging of Guerin carcinoma during magnetic nanotherapy,” *J. Nanopharmaceutics Drug Deliv.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–11, 2014, doi: 10.1166/jnd.2014.1044.
- [149] A. S. Lübke *et al.*, “Clinical experiences with magnetic drug targeting: a phase I study with 4'-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors,” *Cancer Res.*, vol. 56, no. 20, pp. 4686–4693, Oct. 1996.

- [150] B. Thiesen and A. Jordan, “Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia,” *Int. J. Hyperthermia*, vol. 24, no. 6, pp. 467–474, Jan. 2008, doi: 10.1080/02656730802104757.
- [151] M. W. Wilson *et al.*, “Hepatocellular Carcinoma: Regional Therapy with a Magnetic Targeted Carrier Bound to Doxorubicin in a Dual MR Imaging/Conventional Angiography Suite—Initial Experience with Four Patients,” *Radiology*, vol. 230, no. 1, pp. 287–293, Jan. 2004, doi: 10.1148/radiol.2301021493.
- [152] F. Pederzoli, G. Tosi, M. A. Vandelli, D. Belletti, F. Forni, and B. Ruozi, “Protein corona and nanoparticles: how can we investigate on?,” *WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology*, vol. 9, no. 6, p. e1467, 2017, doi: 10.1002/wnan.1467.
- [153] D. Bonvin, D. Chiappe, M. Moniatte, H. Hofmann, and M. M. Ebersold, “Methods of protein corona isolation for magnetic nanoparticles,” *Analyst*, vol. 142, no. 20, pp. 3805–3815, Oct. 2017, doi: 10.1039/C7AN00646B.
- [154] V. H. Nguyen and B.-J. Lee, “Protein corona: a new approach for nanomedicine design,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 3137–3151, Apr. 2017, doi: 10.2147/IJN.S129300.
- [155] M. Izci, C. Maksoudian, B. B. Manshian, and S. J. Soenen, “The Use of Alternative Strategies for Enhanced Nanoparticle Delivery to Solid Tumors,” *Chem. Rev.*, vol. 121, no. 3, pp. 1746–1803, Feb. 2021, doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00779.
- [156] Z. Liu, X. Zhan, X. Xu, Y. Wu, and Z. Gu, “Static Magnetic Field Dictates Protein Corona Formation on the Surface of Glutamine-Modified Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles,” *Part. Part. Syst. Charact.*, vol. 35, no. 4, p. 1700418, 2018, doi: 10.1002/ppsc.201700418.
- [157] S. Nappini, S. Fogli, B. Castroflorio, M. Bonini, F. B. Bombelli, and P. Baglioni, “Magnetic field responsive drug release from magnetoliposomes in biological fluids,” *J. Mater. Chem. B*, vol. 4, no. 4, pp. 716–725, Jan. 2016, doi: 10.1039/C5TB02191J.
- [158] S. R. Saptarshi, A. Duschl, and A. L. Lopata, “Interaction of nanoparticles with proteins: relation to bio-reactivity of the nanoparticle,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 11, no. 1, p. 26, Jul. 2013, doi: 10.1186/1477-3155-11-26.

- [159] T. Zhang *et al.*, “Magnetothermal regulation of in vivo protein corona formation on magnetic nanoparticles for improved cancer nanotherapy,” *Biomaterials*, vol. 276, p. 121021, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.biomaterials.2021.121021.
- [160] R. Ngoune, A. Peters, D. von Elverfeldt, K. Winkler, and G. Pütz, “Accumulating nanoparticles by EPR: A route of no return,” *J. Controlled Release*, vol. 238, pp. 58–70, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.07.028.
- [161] Y. Nakamura, A. Mochida, P. L. Choyke, and H. Kobayashi, “Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer?,” *Bioconjug. Chem.*, vol. 27, no. 10, pp. 2225–2238, Oct. 2016, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00437.
- [162] S. Wilhelm *et al.*, “Analysis of nanoparticle delivery to tumours,” *Nat. Rev. Mater.*, vol. 1, no. 5, pp. 1–12, Apr. 2016, doi: 10.1038/natrevmats.2016.14.
- [163] M. Mohseni *et al.*, “Scalable magnet geometries enhance tumour targeting of magnetic nano-carriers,” *Mater. Des.*, vol. 191, p. 108610, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.matdes.2020.108610.
- [164] M. Subramanian, A. Miaskowski, S. I. Jenkins, J. Lim, and J. Dobson, “Remote manipulation of magnetic nanoparticles using magnetic field gradient to promote cancer cell death,” *Appl. Phys. A*, vol. 125, no. 4, p. 226, Mar. 2019, doi: 10.1007/s00339-019-2510-3.
- [165] J. Dobson, “Remote control of cellular behaviour with magnetic nanoparticles,” *Nat. Nanotechnol.*, vol. 3, no. 3, pp. 139–143, Mar. 2008, doi: 10.1038/nnano.2008.39.
- [166] M. W. Dewhirst and T. W. Secomb, “Transport of drugs from blood vessels to tumour tissue,” *Nat. Rev. Cancer*, vol. 17, no. 12, pp. 738–750, Dec. 2017, doi: 10.1038/nrc.2017.93.
- [167] J. R. Oleson, “A review of magnetic induction methods for hyperthermia treatment of cancer,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 31, no. 1, pp. 91–97, Jan. 1984, doi: 10.1109/TBME.1984.325374.

- [168] L. M. Lacava *et al.*, “Long-term retention of dextran-coated magnetite nanoparticles in the liver and spleen,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 272–276, pp. 2434–2435, May 2004, doi: 10.1016/j.jmmm.2003.12.852.
- [169] M. Levy *et al.*, “Long term in vivo biotransformation of iron oxide nanoparticles,” *Biomaterials*, vol. 32, no. 16, pp. 3988–3999, Jun. 2011, doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.02.031.
- [170] J. A. Tate, A. A. Petryk, A. J. Giustini, and P. J. Hoopes, “In vivo biodistribution of iron oxide nanoparticles: an overview,” *Proc. SPIE*, vol. 7901, p. 790117, Feb. 2011, doi: 10.1117/12.876414.
- [171] N. Singh, G. J. S. Jenkins, R. Asadi, and S. H. Doak, “Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION),” *Nano Rev.*, vol. 1, no. 1, p. 5358, Jan. 2010, doi: 10.3402/nano.v1i0.5358.
- [172] T. Takami and I. Sakaida, “Iron regulation by hepatocytes and free radicals,” *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol. 48, no. 2, pp. 103–106, 2011, doi: 10.3164/jcbn.10-76.
- [173] G. Rishi and V. N. Subramaniam, “The liver in regulation of iron homeostasis,” *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.*, vol. 313, no. 3, pp. G157–G165, Sep. 2017, doi: 10.1152/ajpgi.00004.2017.
- [174] E. Wisse, F. Jacobs, B. Topal, P. Frederik, and B. De Geest, “The size of endothelial fenestrae in human liver sinusoids: implications for hepatocyte-directed gene transfer,” *Gene Ther.*, vol. 15, no. 17, pp. 1193–1199, Sep. 2008, doi: 10.1038/gt.2008.60.
- [175] A. Veith and B. Moorthy, “Role of cytochrome P450s in the generation and metabolism of reactive oxygen species,” *Curr. Opin. Toxicol.*, vol. 7, pp. 44–51, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.cotox.2017.10.003.
- [176] V. E. Orel *et al.*, “Effects induced by a 50 Hz electromagnetic field and doxorubicin on Walker-256 carcinosarcoma growth and hepatic redox state in rats,” *Electromagn. Biol. Med.*, vol. 40, no. 4, pp. 475–487, Oct. 2021, doi: 10.1080/15368378.2021.1958342.

- [177] R. M. Iacobazzi *et al.*, “Magnetic implants *in vivo* guiding sorafenib liver delivery by superparamagnetic solid lipid nanoparticles,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 608, pp. 239–254, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.jcis.2021.09.174.
- [178] S. Fazal, B. Paul-Prasanth, S. V. Nair, and D. Menon, “Theranostic Iron Oxide/Gold Ion Nanoprobes for MR Imaging and Noninvasive RF Hyperthermia,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 9, no. 34, pp. 28260–28272, Aug. 2017, doi: 10.1021/acsami.7b08939.
- [179] T. Kubo, T. Sugita, S. Shimose, Y. Nitta, Y. Ikuta, and T. Murakami, “Targeted delivery of anticancer drugs with intravenously administered magnetic liposomes in osteosarcoma-bearing hamsters,” *Int. J. Oncol.*, vol. 17, no. 2, pp. 309–324, Aug. 2000, doi: 10.3892/ijo.17.2.309.
- [180] R. Tietze *et al.*, “Efficient drug-delivery using magnetic nanoparticles — biodistribution and therapeutic effects in tumour bearing rabbits,” *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.*, vol. 9, no. 7, pp. 961–971, Oct. 2013, doi: 10.1016/j.nano.2013.05.001.
- [181] J. E. Klaunig and L. M. Kamendulis, “The Role of Oxidative Stress in Carcinogenesis,” *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 44, no. Volume 44, 2004, pp. 239–267, Feb. 2004, doi: 10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121851.
- [182] J. Juutilainen, M. Herrala, J. Luukkonen, J. Naarala, and P. J. Hore, “Magnetocarcinogenesis: is there a mechanism for carcinogenic effects of weak magnetic fields?,” *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 285, no. 1879, p. 20180590, May 2018, doi: 10.1098/rspb.2018.0590.
- [183] B. A. Maher *et al.*, “Magnetite pollution nanoparticles in the human brain,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 113, no. 39, pp. 10797–10801, Sep. 2016, doi: 10.1073/pnas.1605941113.
- [184] K. K. Comfort, E. I. Maurer, and S. M. Hussain, “The biological impact of concurrent exposure to metallic nanoparticles and a static magnetic field,” *Bioelectromagnetics*, vol. 34, no. 7, pp. 500–511, 2013, doi: 10.1002/bem.21790.
- [185] J. Tranquillo, J. Goldberg, and R. Allen, *Biomedical Engineering Design*, 1st edition. London, UK: Academic Press, 2022.

- [186] A. L. Plant, L. E. Locascio, W. E. May, and P. D. Gallagher, “Improved reproducibility by assuring confidence in measurements in biomedical research,” *Nat. Methods*, vol. 11, no. 9, pp. 895–898, Sep. 2014, doi: 10.1038/nmeth.3076.
- [187] R. Shaw, S. Miller, J. Curwen, and M. Dymond, “Design, analysis and reporting of tumor models,” *Lab Anim.*, vol. 46, no. 5, pp. 207–211, May 2017, doi: 10.1038/labani.1257.
- [188] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, and J. Dobson, “Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine,” *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 36, no. 13, pp. R167–R181, Jul. 2003, doi: 10.1088/0022-3727/36/13/201.
- [189] A. Hillion *et al.*, “Real-Time Observation and Analysis of Magnetomechanical Actuation of Magnetic Nanoparticles in Cells,” *Nano Lett.*, vol. 22, no. 5, pp. 1986–1991, Mar. 2022, doi: 10.1021/acs.nanolett.1c04738.
- [190] H. G. Keizer, H. M. Pinedo, G. J. Schuurhuis, and H. Joenje, “Doxorubicin (adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity,” *Pharmacol. Ther.*, vol. 47, no. 2, pp. 219–231, 1990, doi: 10.1016/0163-7258(90)90088-j.
- [191] S. Lytvyn, E. Vazhnichaya, Y. Kurapov, O. Semaka, L. Babijchuk, and P. Zubov, “Cytotoxicity of magnetite nanoparticles deposited in sodium chloride matrix and their functionalized analogues in erythrocytes,” *OpenNano*, vol. 11, p. 100143, May 2023, doi: 10.1016/j.onano.2023.100143.
- [192] U. Taylor, C. Rehbock, C. Streich, D. Rath, and S. Barcikowski, “Rational Design of Gold Nanoparticle Toxicology Assays: A Question of Exposure Scenario, Dose and Experimental Setup,” *Nanomed.*, vol. 9, no. 13, pp. 1971–1989, Sep. 2014, doi: 10.2217/nnm.14.139.
- [193] S. Sirimanna, T. Balachandran, and K. Haran, “A Review on Magnet Loss Analysis, Validation, Design Considerations, and Reduction Strategies in Permanent Magnet Synchronous Motors,” *Energies*, vol. 15, no. 17, Art. no. 17, Jan. 2022, doi: 10.3390/en15176116.
- [194] E. A. Thompson *et al.*, “Differential response of MCF7, MDA-MB-231, and MCF 10A cells to hyperthermia, silver nanoparticles and silver nanoparticle-induced

- photothermal therapy,” *Int. J. Hyperthermia*, vol. 30, no. 5, pp. 312–323, Aug. 2014, doi: 10.3109/02656736.2014.936051.
- [195] L. A. D. Amaral *et al.*, “Walker-256 Tumor: Experimental Model, Implantation Sites and Number of Cells for Ascitic and Solid Tumor Development,” *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 62, p. e19180284, 2019, doi: 10.1590/1678-4324-2019180284.
- [196] P. A. Shenoy, A. Kuo, I. Vetter, and M. T. Smith, “The Walker 256 Breast Cancer Cell- Induced Bone Pain Model in Rats,” *Front. Pharmacol.*, vol. 7, Aug. 2016, doi: 10.3389/fphar.2016.00286.
- [197] Орел В.Б., “Патент України на корисну модель: Пристрій для реєстрації механолюмінесценції,” 154715, Dec. 06, 2023 [Online]. Available: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1774445/>
- [198] В. Орел, “Дослідження механолюмінесценції середовища з магнітними наночастинками,” *Біомедична Інженерія І Технологія*, no. 13, Art. no. 13, Mar. 2024, doi: 10.20535/2617-8974.2024.13.298380.
- [199] Орел В.Е., Дасюкевич О.Й., Рихальський О.Ю., and Орел В.Б., “Патент України на винахід: Система для досліджень у шарах фантома грудної залози,” 127977, Feb. 28, 2024 [Online]. Available: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1786115/>
- [200] R. M. S. Sigrist, J. Liau, A. E. Kaffas, M. C. Chammas, and J. K. Willmann, “Ultrasound Elastography: Review of Techniques and Clinical Applications,” *Theranostics*, vol. 7, no. 5, pp. 1303–1329, Mar. 2017, doi: 10.7150/thno.18650.
- [201] Орел В.Е. and Орел В.Б., “Патент України на корисну модель: Пристрій для магнітної нанотерапії,” 79982, May 13, 2013 [Online]. Available: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1139766/>
- [202] F. Davnall *et al.*, “Assessment of tumor heterogeneity: an emerging imaging tool for clinical practice?,” *Insights Imaging*, vol. 3, no. 6, p. 573, Oct. 2012, doi: 10.1007/s13244-012-0196-6.
- [203] A. Crombé *et al.*, “Soft-Tissue Sarcomas: Assessment of MRI Features Correlating with Histologic Grade and Patient Outcome,” *Radiology*, vol. 291, no. 3, pp. 710–721, Jun. 2019, doi: 10.1148/radiol.2019181659.

- [204] N. M. Emanuel, *Kinetics of Experimental Tumour Processes*, 1st edition. Oxford: Pergamon Press, 1982.
- [205] L. Blumenfield, *Problems of Biological Physics*. Berlin ; New York: Springer Verlag, 1981.
- [206] J. Kiernan, *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*, 4th edition, 4th edition. Bloxham: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008.
- [207] B. A. Movchan, “Discrete nanosized metallic coatings produced by EB-PVD,” *Surf. Eng.*, vol. 32, no. 4, pp. 258–266, Apr. 2016, doi: 10.1179/1743294415Y.00000000092.
- [208] Yu. A. Kurapov, S. Ye. Lytvyn, G. G. Didikin, and S. M. Romanenko, “Electron-Beam Physical Vapor Deposition of Iron Nanoparticles and their Thermal Stability in the Fe–O System,” *Powder Metall. Met. Ceram.*, vol. 60, no. 7, pp. 451–463, Nov. 2021, doi: 10.1007/s11106-021-00256-8.
- [209] V. E. Orel *et al.*, “Mechanochemically Activated Doxorubicin Nanoparticles in Combination with 40 MHz Frequency Irradiation on A-549 Lung Carcinoma Cells,” *Drug Deliv.*, vol. 12, no. 3, pp. 171–178, Jan. 2005, doi: 10.1080/10717540590932007.
- [210] M. Xu, A. Kumar, and J. M. LeBeau, “Correlating local chemical and structural order using Geographic Information Systems-based spatial statistics,” *Ultramicroscopy*, vol. 243, p. 113642, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.ultramic.2022.113642.
- [211] V. E. Orel, A. Ashykhmin, T. Golovko, O. Rykhalskyi, and V. B. Orel, “Texture Analysis of Tumor and Peritumoral Tissues Based on 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography Hybrid Imaging in Patients With Rectal Cancer,” *J. Comput. Assist. Tomogr.*, vol. 45, no. 6, pp. 820–828, Dec. 2021, doi: 10.1097/RCT.0000000000001218.
- [212] A. C. Gatrell and T. C. Bailey, “Interactive spatial data analysis in medical geography,” *Soc. Sci. Med.*, vol. 42, no. 6, pp. 843–855, Mar. 1996, doi: 10.1016/0277-9536(95)00183-2.

- [213] A. Radoń *et al.*, “Influence of Magnetite Nanoparticles Shape and Spontaneous Surface Oxidation on the Electron Transport Mechanism,” *Materials*, vol. 14, no. 18, Art. no. 18, Jan. 2021, doi: 10.3390/ma14185241.
- [214] V. B. Orel *et al.*, “Characterization and antitumor effect of doxorubicin-loaded Fe₃O₄–Au nanocomposite synthesized by electron beam evaporation for magnetic nanotheranostics,” *RSC Adv.*, vol. 14, no. 20, pp. 14126–14138, Apr. 2024, doi: 10.1039/D4RA01777C.
- [215] R. M. Lubken, A. M. de Jong, and M. W. J. Prins, “How Reactivity Variability of Biofunctionalized Particles Is Determined by Superpositional Heterogeneities,” *ACS Nano*, vol. 15, no. 1, pp. 1331–1341, Jan. 2021, doi: 10.1021/acsnano.0c08578.
- [216] Y. Ichikawa *et al.*, “Cardiotoxicity of doxorubicin is mediated through mitochondrial iron accumulation,” *J. Clin. Invest.*, vol. 124, no. 2, pp. 617–630, Feb. 2014, doi: 10.1172/JCI72931.
- [217] M.-H. Phan *et al.*, “Exchange Bias Effects in Iron Oxide-Based Nanoparticle Systems,” *Nanomaterials*, vol. 6, no. 11, p. 221, Nov. 2016, doi: 10.3390/nano6110221.
- [218] G. Brennan, S. Bergamino, M. Pescio, S. A. M. Tofail, and C. Silien, “The Effects of a Varied Gold Shell Thickness on Iron Oxide Nanoparticle Cores in Magnetic Manipulation, T1 and T2 MRI Contrasting, and Magnetic Hyperthermia,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 12, Art. no. 12, Dec. 2020, doi: 10.3390/nano10122424.
- [219] Y. Xing *et al.*, “Controllable synthesis and characterization of Fe₃O₄/Au composite nanoparticles,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 380, pp. 150–156, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.jmmm.2014.09.060.
- [220] V. E. Orel *et al.*, “Comparative study of antitumor effect Fe₂O₃ and Fe₃O₄ nanoparticles in nanocomplex with doxorubicin during electromagnetic irradiation and modification of human hepatocellular carcinoma cells (HepG2) with interferon-alpha,” *2013*, vol. 1, no. 9, pp. 140–144, 2013.
- [221] V. E. Orel, O. Dasyukevich, O. Rykhalskyi, V. B. Orel, A. Burlaka, and S. Virko, “Magneto-mechanical effects of magnetite nanoparticles on Walker-256 carcinosarcoma heterogeneity, redox state and growth modulated by an

- inhomogeneous stationary magnetic field,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 538, p. 168314, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.jmmm.2021.168314.
- [222] M. Suwa, S. Tsukahara, and H. Watarai, “Applications of magnetic and electromagnetic forces in micro-analytical systems,” *Lab. Chip*, vol. 23, no. 5, pp. 1097–1127, 2023, doi: 10.1039/D2LC00702A.
- [223] Yu. I. Golovin, A. O. Zhigachev, M. V. Efremova, A. G. Majouga, A. V. Kabanov, and N. L. Klyachko, “Ways and Methods for Controlling Biomolecular Structures Using Magnetic Nanoparticles Activated by an Alternating Magnetic Field,” *Nanotechnologies Russ.*, vol. 13, no. 5, pp. 295–304, May 2018, doi: 10.1134/S1995078018030072.
- [224] R. Merzouki, A. K. Samantaray, P. M. Pathak, and B. Ould Bouamama, *Intelligent Mechatronic Systems: Modeling, Control and Diagnosis*. London: Springer London, 2013. doi: 10.1007/978-1-4471-4628-5.
- [225] J. Jablonski, D. Scharpf, S. Rabade, L. Dobrowski, C. Durell, and J. Holt, “Perfectly understood non-uniformity: methods of measurement and uncertainty of uniform sources,” in *Image Sensing Technologies: Materials, Devices, Systems, and Applications VI*, SPIE, May 2019, pp. 60–72. doi: 10.1117/12.2519038.
- [226] M. R. G. Novaes, R. C. Villafranca, and L. C. G. Novaes, “Histopathological aspects of walker 256 tumor using the multifocal technique of inoculation,” *Turk. Bull. Hyg. Exp. Biol.*, vol. 70, no. 1, pp. 43–49, 2013, doi: 10.5505/TurkHijyen.2013.50465.
- [227] D. J. Doshi, D. E. March, G. M. Crisi, and B. F. Coughlin, “Complex Cystic Breast Masses: Diagnostic Approach and Imaging-Pathologic Correlation,” *RadioGraphics*, vol. 27, no. suppl_1, pp. S53–S64, Oct. 2007, doi: 10.1148/rg.27si075508.
- [228] O. Yersal and S. Barutca, “Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications,” *World J. Clin. Oncol.*, vol. 5, no. 3, pp. 412–424, Aug. 2014, doi: 10.5306/wjco.v5.i3.412.
- [229] A. Sudhyadhom, “On the molecular relationship between Hounsfield Unit (HU), mass density, and electron density in computed tomography (CT),” *PLoS ONE*, vol. 15, no. 12, p. e0244861, Dec. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0244861.

- [230] J. H. Youk, E. J. Son, A. Y. Park, and J.-A. Kim, "Shear-wave elastography for breast masses: local shear wave speed (m/sec) versus Young modulus (kPa)," *Ultrasonography*, vol. 33, no. 1, p. 34, Nov. 2013, doi: 10.14366/usg.13005.
- [231] C. M. I. Quarato *et al.*, "A Review on Biological Effects of Ultrasounds: Key Messages for Clinicians," *Diagnostics*, vol. 13, no. 5, p. 855, Feb. 2023, doi: 10.3390/diagnostics13050855.
- [232] C. K. McGarry *et al.*, "Tissue mimicking materials for imaging and therapy phantoms: a review," *Phys. Med. Biol.*, vol. 65, no. 23, p. 23TR01, Dec. 2020, doi: 10.1088/1361-6560/abbd17.
- [233] K. Capaccione, E. Desperito, A. C. Asiimwe, and M. Salvatore, "Can Hounsfield units on chest CT characterize breast nodules as cystic or solid?," *Transl. Breast Cancer Res.*, vol. 5, p. 6, Nov. 2023, doi: 10.21037/tbcr-23-34.
- [234] A. Trappier, P. Lorio, and L. P. Johnson, "Evolving perspectives on the exposure risks from magnetic fields.," *J. Natl. Med. Assoc.*, vol. 82, no. 9, pp. 621–624, Sep. 1990.
- [235] В. Б. Орел *et al.*, "Тканиноеквівалентний фантом грудної залози для магнітної гіпертермії під впливом електромагнітного та неоднорідного стаціонарного магнітного поля," presented at the Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії», Київ, Україна: Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Dec. 2023, p. 171. [Online]. Available: https://drive.google.com/file/d/1_dRjzoWMM8j6wNzm4K10b4Yn9ryt6V8T/view
- [236] M. S. Ferdous, E. Hosseini Koupaie, C. Eskicioglu, and T. Johnson, "An experimental 13.56MHz radio frequency heating system for efficient thermal pretreatment of wastewater sludge," *Prog. Electromagn. Res. B*, vol. 79, pp. 83–101, Nov. 2017, doi: 10.2528/PIERB17091409.
- [237] R. S. Akki and K. Arunachalam, "A study of factors influencing detectability of breast tumour in microwave radiometry," in *IEEE MTT-S International Microwave and RF Conference*, New Delhi, India: IEEE, Dec. 2013, pp. 1–4. doi: 10.1109/IMaRC.2013.6777730.

- [238] C. Iacovita *et al.*, “Small versus Large Iron Oxide Magnetic Nanoparticles: Hyperthermia and Cell Uptake Properties,” *Molecules*, vol. 21, no. 10, p. 1357, Oct. 2016, doi: 10.3390/molecules21101357.
- [239] A. Ude *et al.*, “Trypan Blue Exclusion Assay, Neutral Red, Acridine Orange and Propidium Iodide,” in *Cytotoxicity - Understanding Cellular Damage and Response*, IntechOpen, 2022. doi: 10.5772/intechopen.105699.
- [240] E. Fabiszewska, K. Pasicz, I. Grabska, W. Skrzyński, W. Ślusarczyk-Kacprzyk, and W. Bulski, “Evaluation of Imaging Parameters of Ultrasound Scanners: Baseline for Future Testing,” *Pol. J. Radiol.*, vol. 82, p. 773, Dec. 2017, doi: 10.12659/PJR.904135.
- [241] N. Tirada *et al.*, “Digital Breast Tomosynthesis: Physics, Artifacts, and Quality Control Considerations,” *RadioGraphics*, Feb. 2019, doi: 10.1148/rg.2019180046.
- [242] A. M. Scaranelo, “What’s Hot in Breast MRI,” *Can. Assoc. Radiol. J.*, vol. 73, no. 1, pp. 125–140, Feb. 2022, doi: 10.1177/08465371211030944.
- [243] C. A. Schneider, W. S. Rasband, and K. W. Eliceiri, “NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis,” *Nat. Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 671–675, Jul. 2012, doi: 10.1038/nmeth.2089.
- [244] B. Mandelbrot, “How Long Is the Coast of Britain? Statistical Self-Similarity and Fractional Dimension,” *Science*, vol. 156, no. 3775, pp. 636–638, May 1967, doi: 10.1126/science.156.3775.636.
- [245] T. G. Smith, G. D. Lange, and W. B. Marks, “Fractal methods and results in cellular morphology — dimensions, lacunarity and multifractals,” *J. Neurosci. Methods*, vol. 69, no. 2, pp. 123–136, Nov. 1996, doi: 10.1016/S0165-0270(96)00080-5.
- [246] A. Karperien, *FracLac for ImageJ*. 2013. doi: 10.13140/2.1.4775.8402.
- [247] G. G. Martins *et al.*, “Sesquiterpene lactones of *Moquiniastrium polymorphum* subsp. *floccosum* have antineoplastic effects in Walker-256 tumor-bearing rats,” *Chem. Biol. Interact.*, vol. 228, pp. 46–56, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.cbi.2015.01.018.
- [248] J. D. Benitez Fuentes *et al.*, “Global Stage Distribution of Breast Cancer at Diagnosis,” *JAMA Oncol.*, vol. 10, no. 1, pp. 71–78, Jan. 2024, doi: 10.1001/jamaoncol.2023.4837.

- [249] H. Zhu and B. E. Doğan, “American Joint Committee on Cancer’s Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: Summary for Clinicians,” *Eur. J. Breast Health*, vol. 17, no. 3, pp. 234–238, Jun. 2021, doi: 10.4274/ejbh.galenos.2021.2021-4-3.
- [250] T. M. Yalovenko, I. M. Todor, N. Y. Lukianova, and V. F. Chekhun, “Hepcidin as a possible marker in determination of malignancy degree and sensitivity of breast cancer cells to cytostatic drugs,” *Exp. Oncol.*, vol. 38, no. 2, pp. 84–88, Jun. 2016.
- [251] V. E. Orel *et al.*, “Nonlinear Magnetochemical Effects in Nanotherapy of Walker-256 Carcinosarcoma,” *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 2, no. 9, pp. 3954–3963, Sep. 2019, doi: 10.1021/acsabm.9b00526.
- [252] S. Begall, E. P. Malkemper, J. Červený, P. Němec, and H. Burda, “Magnetic alignment in mammals and other animals,” *Mamm. Biol.*, vol. 78, no. 1, pp. 10–20, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.mambio.2012.05.005.
- [253] W. T. Schneider, R. A. Holland, and O. Lindecke, “Over 50 years of behavioural evidence on the magnetic sense in animals: what has been learnt and how?,” *Eur. Phys. J. Spec. Top.*, vol. 232, no. 2, pp. 269–278, Mar. 2023, doi: 10.1140/epjs/s11734-022-00755-8.
- [254] N. V. Boroday and V. F. Chekhun, “Morphological features of doxorubicin-resistant Walker 256 carcinosarcoma and response of mast cells,” *Exp. Oncol.*, vol. 40, no. 1, pp. 42–47, Mar. 2018.
- [255] W. Wu *et al.*, “Biocompatibility of Fe₃O₄/DNR magnetic nanoparticles in the treatment of hematologic malignancies,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 5, pp. 1079–1084, 2010, doi: 10.2147/IJN.S15660.
- [256] F. Matsuoka, M. Shinkai, H. Honda, T. Kubo, T. Sugita, and T. Kobayashi, “Hyperthermia using magnetite cationic liposomes for hamster osteosarcoma,” *Biomagn. Res. Technol.*, vol. 2, p. 3, Mar. 2004, doi: 10.1186/1477-044X-2-3.
- [257] V. B. Orel *et al.*, “Ultrasound elastography of Walker-256 carcinosarcoma with Fe₃O₄-Au nanoparticles under magnetic force,” presented at the International Union for Physical and Engineering Sciences in Medicine (IUPESM) World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, Singapore, Jun. 2022, pp. 64–65.

[Online].

Available:

https://cris.vub.be/ws/portalfiles/portal/94999070/WC2022_Oral_Abstracts.pdf

- [258] В. Е. Орел *et al.*, “Патент України на корисну модель: Апарат для електромагнітної гіпертермії,” 31237, Mar. 25, 2008 [Online]. Available: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/313567/>
- [259] V. E. Orel *et al.*, “Antitumor effect of magnetic nanocomplex initiated by inhomogeneous constant magnetic field and alternating electromagnetic field on carcinosarcoma Walker 256,” in *Proceedings of XXXII International Scientific Conference ELNANO 2012*, Kyiv, Ukraine: National Technical University of Ukraine “Kyiv Polytechnic Institute,” Apr. 2012, pp. 164–167. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/M-Jafarov-Or-Ma-Dzhafarov-2/publication/272208438_Nanonegatron_Phenomenon_in_ZnS1-xSex_Films_Deposited_from_Solution/links/5a95b5d2aca27214056941aa/Nanonegatron-Phenomenon-in-ZnS1-xSex-Films-Deposited-from-Solution.pdf#page=174
- [260] V. Orel *et al.*, “Magnetic nanotherapeutics of Guerin carcinoma,” in *Proceedings of XXXIII International Scientific Conference ELNANO 2013*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Apr. 2013, pp. 241–245. doi: 10.1109/ELNANO.2013.6552027.
- [261] V. E. Orel *et al.*, “The effect of the inhomogeneous magnetic fields on the antitumor activity of magnetic nanotherapy,” in *Proceedings of XXXIV International Scientific Conference ELNANO 2014*, Kyiv, Ukraine: IEEE, Apr. 2014, pp. 329–333. doi: 10.1109/ELNANO.2014.6873909.
- [262] T. Wessapan and P. Rattanadecho, “Flow and heat transfer in biological tissue due to electromagnetic near-field exposure effects,” *Int. J. Heat Mass Transf.*, vol. 97, pp. 174–184, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.ijheatmasstransfer.2016.02.021.
- [263] G. Hamilton, “Multicellular spheroids as an in vitro tumor model,” *Cancer Lett.*, vol. 131, no. 1, pp. 29–34, Sep. 1998, doi: 10.1016/S0304-3835(98)00198-0.
- [264] V. B. Orel *et al.*, “Characterization of Inductive Moderate Hyperthermia Effects on Intratumor Sarcoma-45 Heterogeneity Using Magnetic Resonance, Ultrasound and Histology Image Analysis,” *Appl. Sci.*, vol. 14, no. 18, Art. no. 18, Jan. 2024, doi: 10.3390/app14188251.

- [265] K. S. Matveichuk, V. B. Orel, O. I. Dasyukevich, O. Yu. Rykhalskyi, V. E. Orel, and A. G. Diedkov, "Texture analysis of ultrasonic stiffness images of sarcoma-45 tissues irradiated by electromagnetic field," presented at the 13th International Conference on Biotechnology and Bioengineering, Oct. 2023, pp. 75–76. [Online]. Available: <https://icbb.apaset.edu.pl/program/pdf/>
- [266] О. Шаблій, В. Орел, О. Дасюкевич, О. Рихальський, and А. Дєдков, "Індуктивна гіпертермія злоякісних пухлин," presented at the III Міжнародна науково-технічна конференція «Сучасні технології біомедичної інженерії», Одеса, Україна, May 2024, pp. 41–42. [Online]. Available: <https://press.vntu.edu.ua/index.php/vntu/catalog/view/830/1450/2721-1>
- [267] В. Б. Орел, А. Дєдков, В. Е. Орел, О. Дасюкевич, and О. Рихальський, "Дослідження впливу індукційної помірної гіпертермії на гетерогенність МРТ-зображень саркоми-45," presented at the XI Міжнародна конференція "Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку, новітні технології," Київ, Україна: Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет," Sep. 2024, pp. 275–280. doi: <https://doi.org/10.17721/3041-1491/2024.11>.
- [268] J. Carrey, V. Connord, and M. Respaud, "Ultrasound generation and high-frequency motion of magnetic nanoparticles in an alternating magnetic field: Toward intracellular ultrasound therapy?," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 102, no. 23, p. 232404, Jun. 2013, doi: 10.1063/1.4810972.
- [269] von G. Heinicke, *Tribochemistry*. Akademie-Verlag, 1984.
- [270] В. Е. Орел *et al.*, "Патент України на корисну модель: Аплікатор для магнітно-резонансної нанотерапії злоякісних новоутворень," 122772, Jan. 25, 2018 [Online]. Available: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/690520/>
- [271] J. A. Tayek, N. W. Istfan, C. T. Jones, K. J. Hamawy, B. R. Bistran, and G. L. Blackburn, "Influence of the Walker 256 carcinosarcoma on muscle, tumor, and whole-body protein synthesis and growth rate in the cancer-bearing rat," *Cancer Res.*, vol. 46, no. 11, pp. 5649–5654, Nov. 1986.

- [272] A. Samani, J. Zubovits, and D. Plewes, “Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, no. 6, pp. 1565–1576, Mar. 2007, doi: 10.1088/0031-9155/52/6/002.
- [273] О. Б. Динник, М. М. Жайворонок, Н. М. Кобиляк, and М. С. Харченко, “Ультразвукова еластографія: теорія і практика створення навчального тренажера,” *Променева Діагностика Променева Терапія*, no. 3, pp. 42–51, 2014.
- [274] J. A. Jacobson *et al.*, “Ultrasonography of Superficial Soft-Tissue Masses: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement,” *Radiology*, vol. 304, no. 1, pp. 18–30, Jul. 2022, doi: 10.1148/radiol.211101.
- [275] В. Е. Орел *et al.*, “Зміни жорсткості та морфологічні особливості карциносаркоми Уоркер-256 з магнітними наночастинками під впливом постійного магнітного поля,” *Клінічна Онкологія*, vol. 13, no. 1, pp. 40–44, doi: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.49-1.29200.
- [276] V. P. Grover, J. M. Tognarelli, M. M. Crossey, I. J. Cox, S. D. Taylor-Robinson, and M. J. McPhail, “Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians,” *J. Clin. Exp. Hepatol.*, vol. 5, no. 3, p. 246, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.jceh.2015.08.001.
- [277] F. Galati *et al.*, “Radiologic-pathologic correlation in breast cancer: do MRI biomarkers correlate with pathologic features and molecular subtypes?,” *Eur. Radiol. Exp.*, vol. 6, no. 1, p. 39, Aug. 2022, doi: 10.1186/s41747-022-00289-7.
- [278] V. E. Orel *et al.*, “Magnetic Resonance Nanotheranostics of Guerin’s Carcinoma,” in *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, June 7-12, 2015, Toronto, Canada*, D. A. Jaffray, Ed., Cham: Springer International Publishing, 2015, pp. 903–906. doi: 10.1007/978-3-319-19387-8_220.
- [279] E. Umut *et al.*, “Magnetic, optical and relaxometric properties of organically coated gold–magnetite (Au–Fe₃O₄) hybrid nanoparticles for potential use in biomedical applications,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 324, no. 15, pp. 2373–2379, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.jmmm.2012.03.005.

- [280] F. L. Goerner and G. D. Clarke, "Measuring signal-to-noise ratio in partially parallel imaging MRI," *Med. Phys.*, vol. 38, no. 9, p. 5049, Aug. 2011, doi: 10.1118/1.3618730.
- [281] A. Beghdadi, M. A. Qureshi, S. A. Amirshahi, A. Chetouani, and M. Pedersen, "A Critical Analysis on Perceptual Contrast and Its Use in Visual Information Analysis and Processing," *IEEE Access*, vol. 8, pp. 156929–156953, 2020, doi: 10.1109/ACCESS.2020.3019350.
- [282] B. Gopalakrishnan, K. M. Nash, M. Velayutham, and F. A. Villamena, "Detection of Nitric Oxide and Superoxide Radical Anion by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy from Cells using Spin Traps," *J. Vis. Exp.*, no. 66, p. 2810, Aug. 2012, doi: 10.3791/2810.
- [283] A. L. Kleschyov and M. Terekhov, "Electron Paramagnetic Resonance in A Biomedical Laboratory," *Bioanalysis*, vol. 5, no. 18, pp. 2233–2237, Sep. 2013, doi: 10.4155/bio.13.200.
- [284] A. P. Burlaka, I. I. Ganusevich, S. N. Lukin, M. R. Gafurov, and E. P. Sidorik, "Superoxide- and NO-Dependent Mechanisms of the Reprogramming of Bone Marrow Cells by Tumor Cells," *Appl. Magn. Reson.*, vol. 45, no. 11, pp. 1261–1273, Nov. 2014, doi: 10.1007/s00723-014-0610-y.
- [285] A. P. King and R. Eckersley, *Statistics for Biomedical Engineers and Scientists: How to Visualize and Analyze Data*, 1st edition. London: Academic Press, 2019.
- [286] P. Mishra, C. M. Pandey, U. Singh, A. Gupta, C. Sahu, and A. Keshri, "Descriptive Statistics and Normality Tests for Statistical Data," *Ann. Card. Anaesth.*, vol. 22, no. 1, p. 67, Mar. 2019, doi: 10.4103/aca.ACA_157_18.
- [287] J. A. Pearce, "Comparative analysis of mathematical models of cell death and thermal damage processes," *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Group*, vol. 29, no. 4, pp. 262–280, Jun. 2013, doi: 10.3109/02656736.2013.786140.
- [288] Y. Li *et al.*, "The potential application of nanomaterials for ferroptosis-based cancer therapy," *Biomed. Mater.*, vol. 16, no. 4, p. 042013, Jun. 2021, doi: 10.1088/1748-605X/ac058a.

- [289] T. D. Nguyen, S. Mao, Y.-W. Yeh, P. K. Purohit, and M. C. McAlpine, “Nanoscale Flexoelectricity,” *Adv. Mater.*, vol. 25, no. 7, pp. 946–974, 2013, doi: 10.1002/adma.201203852.
- [290] A. S. Garanina *et al.*, “Bifunctional Magnetite–Gold Nanoparticles for Magneto-Mechanical Actuation and Cancer Cell Destruction,” *Magnetochemistry*, vol. 8, no. 12, Art. no. 12, Dec. 2022, doi: 10.3390/magnetochemistry8120185.
- [291] V. Zablotskii, T. Polyakova, and A. Dejneka, “Cells in the Non-Uniform Magnetic World: How Cells Respond to High-Gradient Magnetic Fields,” *BioEssays*, vol. 40, no. 8, p. 1800017, 2018, doi: 10.1002/bies.201800017.
- [292] N. Ueno, D. Ono, and C.-N. Xu, “Detection of Mechanoluminescence Patterns due to Stress Distribution of Structures,” *Trans. Soc. Instrum. Control Eng.*, vol. 48, no. 1, pp. 67–72, 2012, doi: 10.9746/sicetr.48.67.
- [293] V. A. Baraboř and V. E. Orel, “[Intensity of triboluminescence of rat blood during total gamma-irradiation],” *Radiobiologiya*, vol. 27, no. 6, pp. 810–813, 1987.
- [294] J.-S. Kim, K. Jeong, J. M. Murphy, Y. A. R. Rodriguez, and S.-T. S. Lim, “A Quantitative Method to Measure Low Levels of ROS in Nonphagocytic Cells by Using a Chemiluminescent Imaging System,” *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2019, no. 1, p. 1754593, 2019, doi: 10.1155/2019/1754593.
- [295] R. R. Jones, D. C. Hooper, L. Zhang, D. Wolverson, and V. K. Valev, “Raman Techniques: Fundamentals and Frontiers,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 14, no. 1, p. 231, Jul. 2019, doi: 10.1186/s11671-019-3039-2.
- [296] V. E. Orel, “DNA triboluminescence and carcinogenesis,” *Med. Hypotheses*, vol. 40, no. 5, pp. 267–268, May 1993, doi: 10.1016/0306-9877(93)90003-9.
- [297] S. M. Mousavi *et al.*, “Multifunctional Gold Nanorod for Therapeutic Applications and Pharmaceutical Delivery Considering Cellular Metabolic Responses, Oxidative Stress and Cellular Longevity,” *Nanomaterials*, vol. 11, no. 7, Art. no. 7, Jul. 2021, doi: 10.3390/nano11071868.
- [298] E. Kozenkova *et al.*, “Multifunctional Fe₃O₄-Au Nanoparticles for the MRI Diagnosis and Potential Treatment of Liver Cancer,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 9, Art. no. 9, Sep. 2020, doi: 10.3390/nano10091646.

- [299] I. Sechopoulos, “A review of breast tomosynthesis. Part II. Image reconstruction, processing and analysis, and advanced applications,” *Med. Phys.*, vol. 40, no. 1, p. 014302, Jan. 2013, doi: 10.1118/1.4770281.
- [300] J. Huang, J. K. Triedman, N. V. Vasilyev, Y. Suematsu, R. O. Cleveland, and P. E. Dupont, “Imaging artifacts of medical instruments in ultrasound-guided interventions,” *J. Ultrasound Med. Off. J. Am. Inst. Ultrasound Med.*, vol. 26, no. 10, pp. 1303–1322, Oct. 2007, doi: 10.7863/jum.2007.26.10.1303.
- [301] H. A. Garcia-Martinez, M. Llamas-Bueno, S. Song, and A. Lopez-Valdivieso, “Magnetic Flocculation of Mineral Fines in an External Magnetic Field,” *Miner. Process. Extr. Metall. Rev.*, vol. 25, no. 2, pp. 67–90, Apr. 2004, doi: 10.1080/08827500490433179.
- [302] В. Орел, И. Смоланка, Коровин, Сергей, А. Паливец, М. Данко, and Н. Дзятковская, *Электромагнитные поля радиоволн в онкологии*, Книга Плюс. Kyiv, 2005. doi: 10.13140/2.1.2121.7608.
- [303] R. J. Griffin, R. P. M. Dings, A. Jamshidi-Parsian, and C. W. Song, “Mild temperature hyperthermia and radiation therapy: Role of tumour vascular thermotolerance and relevant physiological factors,” *Int. J. Hyperthermia*, vol. 26, no. 3, pp. 256–263, Jan. 2010, doi: 10.3109/02656730903453546.
- [304] J. D. V. Moreira *et al.*, “The Redox Status of Cancer Cells Supports Mechanisms behind the Warburg Effect,” *Metabolites*, vol. 6, no. 4, Art. no. 4, Dec. 2016, doi: 10.3390/metabo6040033.
- [305] H. Sun, C. Zhang, S. Cao, T. Sheng, N. Dong, and Y. Xu, “Fenton reactions drive nucleotide and ATP syntheses in cancer,” *J. Mol. Cell Biol.*, vol. 10, no. 5, pp. 448–459, Oct. 2018, doi: 10.1093/jmcb/mjy039.
- [306] N. Raghunand and R. J. Gillies, “pH and drug resistance in tumors,” *Drug Resist. Updat. Rev. Comment. Antimicrob. Anticancer Chemother.*, vol. 3, no. 1, pp. 39–47, Feb. 2000, doi: 10.1054/drup.2000.0119.
- [307] V. E. Orel *et al.*, “Analysis of ultrasound elastography images for tumor guerin carcinoma during magnetic nanotherapy,” *Phys. Medica Eur. J. Med. Phys.*, vol. 30, pp. e36–e37, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.ejmp.2014.07.114.

- [308] Z. Yu *et al.*, “Autophagy defects and related genetic variations in renal cell carcinoma with eosinophilic cytoplasmic inclusions,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 9972, Jul. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-28369-y.
- [309] J. E. Perez *et al.*, “Transient cell stiffening triggered by magnetic nanoparticle exposure,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 19, no. 1, p. 117, Apr. 2021, doi: 10.1186/s12951-021-00790-y.
- [310] T. Stylianopoulos, J. D. Martin, M. Snuderl, F. Mpekris, S. R. Jain, and R. K. Jain, “Coevolution of solid stress and interstitial fluid pressure in tumors during progression: implications for vascular collapse,” *Cancer Res.*, vol. 73, no. 13, pp. 3833–3841, Jul. 2013, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4521.
- [311] V. I. Shubayev, T. R. Pisanic, and S. Jin, “Magnetic nanoparticles for theragnostics,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 61, no. 6, pp. 467–477, Jun. 2009, doi: 10.1016/j.addr.2009.03.007.
- [312] K. Lauber, A. Ernst, M. Orth, M. Herrmann, and C. Belka, “Dying cell clearance and its impact on the outcome of tumor radiotherapy,” *Front. Oncol.*, vol. 2, Sep. 2012, doi: 10.3389/fonc.2012.00116.
- [313] F. Chamming’s *et al.*, “Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation,” *Eur. Radiol.*, vol. 23, no. 8, pp. 2079–2086, Aug. 2013, doi: 10.1007/s00330-013-2828-8.
- [314] L. Van der Meeren, J. Verduijn, D. V. Krysko, and A. G. Skirtach, “AFM Analysis Enables Differentiation between Apoptosis, Necroptosis, and Ferroptosis in Murine Cancer Cells,” *iScience*, vol. 23, no. 12, p. 101816, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.isci.2020.101816.
- [315] M. P. Hernández-Cáceres *et al.*, “Mechanobiology of Autophagy: The Unexplored Side of Cancer,” *Front. Oncol.*, vol. 11, Feb. 2021, doi: 10.3389/fonc.2021.632956.
- [316] N. J.-Y. Park *et al.*, “Peritumoral edema in breast cancer at preoperative MRI: an interpretative study with histopathological review toward understanding tumor microenvironment,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 12992, Jun. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-92283-z.

- [317] W. J. Polacheck, A. E. German, A. Mammoto, D. E. Ingber, and R. D. Kamm, “Mechanotransduction of fluid stresses governs 3D cell migration,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 111, no. 7, pp. 2447–2452, Feb. 2014, doi: 10.1073/pnas.1316848111.
- [318] J. M. Tse *et al.*, “Mechanical compression drives cancer cells toward invasive phenotype,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 109, no. 3, pp. 911–916, Jan. 2012, doi: 10.1073/pnas.1118910109.
- [319] Y. Qiu *et al.*, “Magnetic forces enable controlled drug delivery by disrupting endothelial cell-cell junctions,” *Nat. Commun.*, vol. 8, no. 1, p. 15594, Jun. 2017, doi: 10.1038/ncomms15594.
- [320] M. V. Efremova *et al.*, “Magnetite-Gold nanohybrids as ideal all-in-one platforms for theranostics,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 11295, Jul. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-29618-w.
- [321] S. Revannasiddaiah, V. V. Maka, and S. K. Devadas, “Tumour growth kinetics as a potential predictive and prognostic factor in carcinoma of the lung,” *Ann. Transl. Med.*, vol. 7, no. 14, Art. no. 14, Jul. 2019, doi: 10.21037/atm.2019.07.39.
- [322] Y. Ikeda, J. H. Anderson, and D. M. Long, “Oxygen free radicals in the genesis of traumatic and peritumoral brain edema,” *Neurosurgery*, vol. 24, no. 5, pp. 679–685, May 1989, doi: 10.1227/00006123-198905000-00004.
- [323] L. Morbidelli, S. Donnini, and M. Ziche, “Role of Nitric Oxide in Tumor Angiogenesis,” in *Angiogenesis in Brain Tumors*, M. Kirsch and P. McL. Black, Eds., Boston, MA: Springer US, 2004, pp. 155–167. doi: 10.1007/978-1-4419-8871-3_11.
- [324] W. Dröge, “Free radicals in the physiological control of cell function,” *Physiol. Rev.*, vol. 82, no. 1, pp. 47–95, Jan. 2002, doi: 10.1152/physrev.00018.2001.
- [325] M.-V. Clément and S. Pervaiz, “Intracellular superoxide and hydrogen peroxide concentrations: a critical balance that determines survival or death,” *Redox Rep.*, vol. 6, no. 4, pp. 211–214, Aug. 2001, doi: 10.1179/135100001101536346.
- [326] M. P. Murphy, “Nitric oxide and cell death,” *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.*, vol. 1411, no. 2, pp. 401–414, May 1999, doi: 10.1016/S0005-2728(99)00029-8.

- [327] L. P. Michaelson, C. Iler, and C. W. Ward, “ROS and RNS signaling in skeletal muscle: critical signals and therapeutic targets,” *Annu. Rev. Nurs. Res.*, vol. 31, pp. 367–387, 2013, doi: 10.1891/0739-6686.31.367.
- [328] C. K. Sen and S. Roy, “Redox signals in wound healing,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1780, no. 11, pp. 1348–1361, Nov. 2008, doi: 10.1016/j.bbagen.2008.01.006.
- [329] J. Schreiber, C. Mottley, B. K. Sinha, B. Kalyanaraman, and R. P. Mason, “One-electron reduction of daunomycin, daunomycinone, and 7-deoxydaunomycinone by the xanthine/xanthine oxidase system: detection of semiquinone free radicals by electron spin resonance,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 109, no. 2, pp. 348–351, Jan. 1987, doi: 10.1021/ja00236a009.
- [330] G. Ferrer-Sueta and R. Radi, “Chemical Biology of Peroxynitrite: Kinetics, Diffusion, and Radicals,” *ACS Chem. Biol.*, vol. 4, no. 3, pp. 161–177, Mar. 2009, doi: 10.1021/cb800279q.
- [331] S. Tofani *et al.*, “Static and ELF magnetic fields induce tumor growth inhibition and apoptosis,” *Bioelectromagnetics*, vol. 22, no. 6, pp. 419–428, 2001, doi: 10.1002/bem.69.
- [332] V. Makrin and I. Vagner, “Clinical hyperthermia by resonant selective tumor destruction tuned by hyperfine interaction: I. Basic model,” Jan. 2006.
- [333] A. Sharma, U. Sharma, N. R. Jagannathan, R. Ray, and M. R. Rajeswari, “Effect of Doxorubicin on Squamous Cell Carcinoma of Skin: Assessment by MRI Relaxometry at 4.7T,” *Cancer Invest.*, vol. 37, no. 8, pp. 339–354, Sep. 2019, doi: 10.1080/07357907.2019.1651327.
- [334] R.-W. Tain, A. M. Scotti, W. Li, X. J. Zhou, and K. Cai, “Imaging short-lived reactive oxygen species (ROS) with endogenous contrast MRI,” *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 47, no. 1, pp. 222–229, 2018, doi: 10.1002/jmri.25763.
- [335] X. Chao *et al.*, “Cytotoxicity of Fe₃O₄/Au composite nanoparticles loaded with doxorubicin combined with magnetic field,” *Pharm.*, vol. 65, no. 7, pp. 500–504, Jul. 2010.
- [336] J. Gautier, E. Allard-Vannier, E. Munnier, M. Soucé, and I. Chourpa, “Recent advances in theranostic nanocarriers of doxorubicin based on iron oxide and gold

nanoparticles,” *J. Controlled Release*, vol. 169, no. 1, pp. 48–61, Jul. 2013, doi: 10.1016/j.jconrel.2013.03.018.

- [337] I. Venugopal, S. Pernal, A. Duproz, J. Bentley, H. Engelhard, and A. Linninger, “Magnetic field-enhanced cellular uptake of doxorubicin loaded magnetic nanoparticles for tumor treatment,” *Mater. Res. Express*, vol. 3, no. 9, p. 095010, Sep. 2016, doi: 10.1088/2053-1591/3/9/095010.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

СТАТТІ У ФАХОВИХ І МІЖНАРОДНИХ ВИДАННЯХ

1. Orel V.E.; Tselepi M.; Mitrelias T.; Zabolotny M.; Krotevich M.; Shevchenko A.; Rykhalskyi A.; Romanov A.; **Orel V.B.**; Burlaka A.; Lukin S.; Stegnii V. **Nonlinear magnetochemical effects in nanotherapy of Walker-256 carcinosarcoma**, ACS Applied Bio Materials, 2, 9, 3954–3963, 2019. DOI: 10.1021/acsabm.9b00526. (Q2 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці статті до друку.
2. Orel V.E.; Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; **Orel V.B.**; Burlaka A.P.; Virko S.V. **Magneto-mechanical effects of magnetite nanoparticles on Walker-256 carcinosarcoma heterogeneity, redox state and growth modulated by an inhomogeneous stationary magnetic field**, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 538, 168314, 2021. DOI: 10.1016/j.jmmm.2021.168314. (Q2 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці статті до друку.
3. **Orel V.B.**; Papazoglou A.S.; Tsagkaris C.; Moysidis D.V.; Papadakos S.; Galkin O.Y.; Orel V.E.; Syvak L.A. **Nanotherapy based on magneto-mechanochemical modulation of tumor redox state**. Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology, 15, 3, e1868, 2023. DOI: 10.1002/wnan.1868. (Q1 згідно з SCImago Journal and Country Rank).
Особистий внесок здобувача – концептуалізація, аналіз, формалізація та ілюстрація літературних джерел, підготовка статті до друку.
4. **Orel V.B.**; Galkin O.Yu.; Orel V.E.; Dasyukevich O.Yo.; Rykhalskyi O.Yu.; Kurapov Yu.A.; Litvin S.A.; Yukhymchuk V.O.; Isayeva O.F.; Syvak L.A.;

Dedkov A.G. **Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells induced by magneto-mechanochemical effects of Fe₃O₄–Au nanocomposite.**

Journal of Mechanics in Medicine and Biology. 23, 6, 2340027, 2023. DOI: 10.1142/S0219519423400274. (Q4 згідно з SCImago Journal and Country Rank).

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці статті до друку.

5. **Orel V.B.**; Kurapov Y.A.; Lytvyn S.Y.; Orel V.E.; Galkin O.Y.; Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; Diedkov A.G.; Ostafiichuk V.V.; Lyalkin S.A.; Burlaka A.P.; Virko S.V.; Skoryk M.A.; Zagorodnii V.V.; Stelmakh Y.A.; Didikin G.G.; Oranska O.I.; Calcagnile L.; Manno D.E.; Rinaldi R.; Nedostup Y.V. **Characterization and antitumor effect of doxorubicin-loaded Fe₃O₄-Au nanocomposite synthesized by electron beam evaporation for magnetic nanotheranostics.** RSC Advances 14, 20, 14126–14138, 2024. DOI: 10.1039/d4ra01777c. (Q1 згідно з SCImago Journal and Country Rank).

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці статті до друку.

6. Орел В.Е.; Динник О.Б.; Сивак Л.А.; **Орел В.Б.**; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; Галкін О.Ю.; Дедков А.Г.; Головка Т.С. **Зміни жорсткості та морфологічні особливості карциносаркоми Уоркер-256 з магнітними наночастинками під впливом постійного магнітного поля.** Клінічна онкологія 13, 1, 40–44, 2023. DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.49-1.29200. (наукове фахове видання України категорії «Б» за спеціальністю «Медицина»).

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці статті до друку.

7. **Орел В.Б.** Дослідження механолюмінесценції середовища з магнітними наночастинками, Біомедична інженерія і технологія, 13, 1, 33–41, 2024. DOI:

10.20535/2617-8974.2024.13.298380. (наукове фахове видання України категорії «Б» за спеціальністю «Біомедична інженерія»).

ПАТЕНТИ УКРАЇНИ

8. Орел В.Е.; **Орел В.Б.** Патент України на корисну модель «**Пристрій для магнітної нанотерапії**» № 79982, Номер заявки: u201212717, Опубліковано 13.05.2013, бюл. № 9/2013.

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, розробці формули винаходу, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, оформленні заявки.

9. Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; **Орел В.Б.**, Патент України на винахід «**Система для досліджень у шарах фантома грудної залози**» № 127977, Номер заявки: a202103794. Опубліковано 28.02.2024, бюл. № 9/2024.

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, розробці формули винаходу, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, оформленні заявки.

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ

10. Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; **Орел В.Б.**, Бурлака А.П., **Дистанційно керована протипухлинна активність магнітного наноконфлексу**, XIV з'їзд онкологів та радіологів України, 30 вересня–2 жовтня 2021 р., Київ, Україна. С. 392–393.

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

11. **Орел В.Б.**; Галкін О.Ю.; Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; Курапов Ю.А.; Литвин С.Є. **Комбінований вплив наноконфлексу Fe₃O₄-Au з доксорубіцином та електромагнітного випромінювання на тварин з карциносаркомою Уоркер-256**. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної

та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 19 травня 2022 р., Харків, Україна. С. 261. Доступно за посиланням <https://pat.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2022/04/zbirnyk-materialiv-konferentsii-2-19.05.2022.pdf>

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

12. **Orel V.**; Dynnyk O.; Orel V.; Galkin O.; Kurapov Yu.; Lytvyn S.; Dasyukevich O.; Rykhalskyi O. **Ultrasound elastography of Walker-256 carcinosarcoma with Fe₃O₄-Au nanoparticles under magnetic force.** International Union for Physical and Engineering Sciences in Medicine (IUPESM) World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, 12–17 червня 2022 р., Сінгапур, Сінгапур. С. 64–65. Доступно за посиланням: https://cris.vub.be/ws/portalfiles/portal/94999070/WC2022_Oral_Abstracts.pdf

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, радіологічній візуалізації, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

13. **Orel V.B.**; Ashykhmin A.V.; Orel V.E.; Rykhalskyi O.Yu.; Golovko T.S., **Texture analysis for nonlinear characterization of ¹⁸F-FDG PET/CT images in patients with rectal cancer: Comparison between tumor and peritumoral tissues,** European Congress of Radiology, 13–17 липня 2022 р., Відень, Австрія. Insights into Imaging 13, 205, С. 236., DOI: 10.1186/s13244-022-01337-x.

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, радіологічній оцінці, текстурному аналізі медичних зображень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

14. **Orel V.B.**; Galkin O.Yu.; Orel V.E.; Dasyukevich O.Yo.; Rykhalskyi O.Yu.; Syvak L.A.; Kurapov Yu. A.; Lytvyn S.Ye. **Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells *in vitro* by magneto-mechanochemical effects.** S8M: Cell and molecular biophysics and biomechanics, XXII International Conference

on Mechanics in Medicine and Biology, 19–21 вересня 2022 р., Болонський університет, Болонья, Італія. С. 42. DOI: 10.6092/unibo/amsacta/7024.

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

15. **Orel V.B.;** Matveichuk K.S.; Orel V.E.; Galkin O.Yu.; Rykhalskyi O.Yu.; Dasyukevich O.Yo.; Golovko T.S. **Texture Analysis of T₁-weighted and STIR magnetic resonance images for Lewis lung carcinoma nanotheranostics.** 2022 IEEE 41st International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO), 10–14 жовтня 2022 р., Київ, Україна. С. 314–317. DOI: 10.1109/ELNANO54667.2022.9927034.

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, радіологічній оцінці, текстурному аналізі медичних зображень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

16. **Orel V.B.;** Dynnyk O.B.; Orel V.E.; Galkin O.Yu.; Dayukevich O.I.; Rykhalskyi O.Y.; Syvak L.A.; Dedkov A.G.; Golovko T.S. **Effects of magnetic force mediated by Fe₃O₄ nanoparticles on breast cancer animal model.** Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії», 15–16 грудня 2022 р., Київ, Україна. С. 30. DOI: 10.20535/biomedconf.2022.15122022. Доступно за посиланням:

https://elartu.tntu.edu.ua/bitstream/lib/39550/1/Book_of_abstracts.pdf

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, радіологічній візуалізації, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

17. Matveichuk K.S.; **Orel V.B.;** Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; Orel V.E.; Diedkov A.G. **Texture analysis of ultrasonic stiffness images of sarcoma-45 tissues irradiated by electromagnetic field.** 13th International Conference on Biotechnology and Bioengineering, 28 вересня–1 жовтня 2023 р., С. 75–76. Доступно за посиланням: <https://icbb.apaset.edu.pl/program/pdf/>

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, радіологічній візуалізації, текстурному аналізі медичних зображень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

18. **Орел В.Б.**; Дасюкевич О.Й.; Орел В.Е.; Галкін О.Ю.; Дунаєвський В.І.; Назарчук С.С.; Котовський В.Й.; Рихальський О.Ю.; Лялькін С.А.; Гарманчук Л.В., **Тканиноеквівалентний фантом грудної залози для магнітної гіпертермії під впливом електромагнітного та неоднорідного стаціонарного магнітного поля.** Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний стан та перспективи біомедичної інженерії», 13–14 грудня 2023 р., Київ, Україна. С. 171. Доступно за посиланням: https://drive.google.com/file/d/1_dRjzoWMM8j6wNzm4K10b4Yn9ryt6V8T/view

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, розробці дизайну фантома, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, радіологічній візуалізації, текстурному аналізі медичних зображень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

19. Шаблій О.; **Орел В.**; Дасюкевич О.; Рихальський О.; Дєдков А., **Індуктивна гіпертермія злоякісних пухлин.** III Міжнародна науково-технічна конференція «Сучасні технології біомедичної інженерії», 8–10 травня 2024 р., Одеса, Україна. С. 41–42. Доступно за посиланням: <https://press.vntu.edu.ua/index.php/vntu/catalog/view/830/1450/2721-1>

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

20. **Орел В.Б.**, Дєдков А., Орел В.Е., Дасюкевич О., Рихальський О., Дослідження впливу індукційної помірної гіпертермії на гетерогенність МРТ-зображень саркоми-45. XI Міжнародна конференція «Медична фізика – сучасний стан, проблеми, шляхи розвитку, новітні технології», 25–27 вересня

2024 р., Київ, Україна. С. 275–280. DOI: 10.17721/3041-1491/2024.11-36.

Доступно за посиланням: https://conference.rb.knu.ua/all_book_2024.pdf

Особистий внесок здобувача – участь в аналізі літературних джерел, плануванні та проведенні експериментальних досліджень, радіологічній візуалізації, текстурному аналізі медичних зображень, обробці й аналізі отриманих результатів, підготовці тез до друку.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з навчальної роботи
Національного технічного університету
України «Київський політехнічний
інститут імені Ігоря Сікорського»

Тетяна ЖЕЛЯСКОВА

грудень 2024 р.

ДОВІДКА ПРО ВИКОРИСТАННЯ

результатів дисертаційної роботи Орла Валерія Бінговича
«Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики
експериментальної злоякісної пухлини» в освітньому процесі кафедри
біомедичної інженерії Національного технічного університету України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Ми, що нижче підписалися, комісія у складі: завідувач кафедри біомедичної інженерії проф., д.т.н. Шликов В.В., проф., д.т.н. Лебедев О.В., відповідальний за методичну роботу доц., к.ф.-м.н. Соломін А.В., склали акт про використання результатів дисертаційної роботи Орла Валерія Бінговича «Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики експериментальної злоякісної пухлини» у навчальному процесі кафедри біомедичної інженерії, а саме: результати роботи враховано при розробці навчальних програм (силабусів) та впроваджено з 2022/2023 н.р. у викладанні дисциплін «Біофізика» (теми занять: «Нанотехнології та нанороботи», «Біомедична інженерія та рак») та «Радіаційна безпека і дозиметрія» (теми занять: «Технічні засоби рентгенівської техніки», «Технічні засоби і безпека МРТ в медицині») для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 163 «Біомедична інженерія» та 122 «Комп'ютерні науки».

Завідувач кафедри БМІ
д.т.н., проф.

Владислав ШЛИКОВ

Проф. кафедри БМІ
д.т.н.

Олексій ЛЕБЕДЕВ

Відповідальний за методичну роботу
на кафедрі БМІ
доц., к.ф.-м.н.

Андрій СОЛОМІН



УКРАЇНА

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНЕ НЕКОМЕРЦІЙНЕ ПІДПРИЄМСТВО
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ»
(ДНП «НІР»)

Україна, 03022, місто Київ, вулиця Юлії Здановської, 33/43 тел. (044) 293-21-60
 www.unci.org.ua e-mail: info@unci.org.ua код ЄДРПОУ 02011976

№ _____

Проректору з навчальної роботи
Національного технічного
університету України «Київський
політехнічний інститут імені Ігоря
Сікорського»
Тетяні ЖЕЛЯСКОВІЙ

Дисертаційну роботу лікаря-рентгенолога науково-клінічного відділення променевої діагностики з рентгенівськими кабінетами клініки радіології державного некомерційного підприємства «Національний інститут раку» (далі – ДНП «НІР»), аспіранта кафедри трансляційної медичної біоінженерії Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» Орла Валерія Бінговича «Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики експериментальної злоякісної пухлини» було виконано на базі ДНП «НІР» у рамках наступних науково-дослідних робіт: «Оптимізація консервативного лікування хворих на рак грудної залози HER2/neu - (негативний) групи високого ризику прогресування захворювання» (державний реєстраційний номер: 0120U002186), «Розробити методіку протипухлинної терапії первинних злоякісних пухлин кісток, засновану на магнітохімічній технології з використанням наноконструкцій» (державний реєстраційний номер: 0123U100711) та «Покращення результатів консервативного лікування хворих на рак грудної залози з низьким або негативним статусом HER2/neu на основі оптимізації та індивідуалізації методів терапії» (державний реєстраційний номер: 0123U100713). Отримані результати дослідження опубліковано у наступних наукових роботах:

1. Orel V.B., Papazoglou A.S., Tsagkaris C., Moysidis D.V., Papadakis S., Galkin O.Y., Orel V.E., Syvak L.A. Nanotherapy based on magneto-mechanochemical modulation of tumor redox state. Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology, 15, 3, e1868, 2023. DOI: 10.1002/wnan.1868.

Національний інститут раку

2299/0/2-24 Від 22.10.2024



2. Orel V.B., Galkin O.Yu., Orel V.E., Dasyukevich O.Yo., Rykhalskyi O.Yu., Kurapov Yu.A., Litvin S.A., Yukhymchuk V.O., Isayeva O.F., Syvak L.A., Dedkov A.G. Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells induced by magneto-mechanochemical effects of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ nanocomposite. *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, 23, 6, 2340027, 2023. DOI: [10.1142/S0219519423400274](https://doi.org/10.1142/S0219519423400274).
3. Орел В.Е., Динник О.Б., Сивак Л.А., Орел В.Б., Дасюкевич О.Й., Рихальський О.Ю., Галкін О.Ю., Дедков А.Г., Головка Т.С. Зміни жорсткості та морфологічні особливості карциносаркоми Уоркер-256 з магнітними наночастинками під впливом постійного магнітного поля. *Клінічна онкологія*, 13, 1, 40–44, 2023. DOI: [10.32471/clinicaloncology.2663-466X.49-1.29200](https://doi.org/10.32471/clinicaloncology.2663-466X.49-1.29200).
4. Орел В.Е., Дасюкевич О.Й., Рихальський О.Ю., Орел В.Б., Патент України на винахід «Система для досліджень у шарах фантома грудної залози» № 127977, Номер заявки: а202103794. Опубліковано 28.02.2024, бюл. № 9/2024.
5. Orel V.B., Kurapov Y.A., Lytvyn S.Y., Orel V.E., Galkin O.Y., Dasyukevich O.Y., Rykhalskyi O.Y., Diedkov A.G., Ostafiichuk V.V., Lyalkin S.A., Burlaka A.P., Virko S.V., Skoryk M.A., Zagorodnii V.V., Stelmakh Y.A., Didikin G.G., Oranska O.I., Calcagnile L., Manno D.E., Rinaldi R., Nedostup Y.V. Characterization and antitumor effect of doxorubicin-loaded $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ nanocomposite synthesized by electron beam evaporation for magnetic nanotheranostics. *RSC Advances*, 14, 20, 14126-14138, 2024. DOI: [10.1039/d4ra01777c](https://doi.org/10.1039/d4ra01777c).
6. Orel V.B., Dasyukevich O.Y., Orel V.E., Rykhalskyi O.Y., Kovalevska L.M., Galkin O.Y., Matveichuk K.S., Diedkov A.G., Ostafiichuk V.V., Shabluii O.S. Characterization of inductive moderate hyperthermia effects on intratumor sarcoma-45 heterogeneity using magnetic resonance, ultrasound and histology image analysis. *Applied Sciences (Switzerland)*, 14, 18, 8251, 2024. DOI: [10.3390/app14188251](https://doi.org/10.3390/app14188251).

**Медичний директор з
стратегічного розвитку та
амбулаторно-діагностичної
роботи,
заслужений лікар України,
доктор медичних наук**



Олександр ЯЦИНА

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заст. директора з наукової роботи
Інституту електрозварювання
ім. Є. О. Патона НАН України
академік НАН України.



д.т.н., професор

Леонід ЛОБАНОВ

«4» грудня 2024 р.

АКТ**впровадження науково-методичної розробки**

Об'єкт впровадження: впровадження нових біоінженерних засобів магнітної нанотераностики злоякісних пухлин.

Джерело науково-технічної інформації: матеріали дисертаційного дослідження Орла В.Б. «Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики експериментальної злоякісної пухлини», які опубліковано у наступних наукових роботах:

1. Орел В.Б.; Галкін О.Ю.; Орел В.Е.; Дасюкевич О.Й.; Рихальський О.Ю.; Курапов Ю.А.; Литвин С.Є. Комбінований вплив нанокмплесу $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ з доксорубіцином та електромагнітного випромінювання на тварин з карциносаркомою Уоркер-256. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» 19 травня 2022 р., Харків, Україна. с. 266.
2. Orel, V. B., Galkin, O. Yu., Orel, V. E., Dasyukevich, O. Yo., Rykhalskyi, O.Yu., Syvak L. A., Kurapov, Yu. A., Lytvyn, S. Ye. Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells in vitro by magneto-mechanochemical effects. In Abstracts Book "XXII International Conference on Mechanics in Medicine and Biology" 19-21 September 2022, University of Bologna, Bologna, Italy, P. 42. DOI: 10.6092/unibo/amsacta/7024
3. Orel V.B., Dynnyk O., Orel V.E., Galkin O., Kurapov Yu., Lytvyn S., Dasyukevich O., Rykhalskyi O. Ultrasound elastography of Walker-256 carcinosarcoma with $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ nanoparticles under magnetic force. IUPESM World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering (IUPESM WC2022), 12-17 June 2022, Sands Expo and Convention Centre, Singapore, Book of abstracts, p.64-65.

4. Orel V.B.; Galkin O.Yu.; Orel V.E.; Dasyukevich O.Yo.; Rykhalskyi O.Yu.; Kurapov Yu.A.; Litvin S.A.; Yukhymchuk V.O.; Isayeva O.F.; Syvak L.A.; Dedkov A.G. Mechanoluminescence of Walker-256 carcinosarcoma cells induced by magneto-mechanochemical effects of Fe_3O_4 -Au nanocomposite. *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*. 23, 6, 2340027, 2023. DOI: 10.1142/S0219519423400274.
5. Orel V.B.; Kurapov Y.A.; Lytvyn S.Y.; Orel V.E.; Galkin O.Y.; Dasyukevich O.Y.; Rykhalskyi O.Y.; Diedkov A.G.; Ostafiichuk V.V.; Lyalkin S.A.; Burlaka A.P.; Virko S.V.; Skoryk M.A.; Zagorodnii V.V.; Stelmakh Y.A.; Didikin G.G.; Oranska O.I.; Calcagnile L.; Manno D.E.; Rinaldi R.; Nedostup Y.V. Characterization and antitumor effect of doxorubicin-loaded Fe_3O_4 -Au nanocomposite synthesized by electron beam evaporation for magnetic nanotheranostics. *RSC Advances* 14, 20, 14126–14138, 2024. DOI: 10.1039/d4ra01777c.

Ким запропоновано, адреса, виконавці: Науково-клінічне відділення променевої діагностики з рентгенівським кабінетами клініки радіології, Державного некомерційного підприємства «Національний інститут раку», вул. Юлії Здановської, 33/43, м. Київ, 03022, Україна.

Кафедра трансляційної медичної біоінженерії факультету біомедичної інженерії Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», вул. Янгеля, 16/2, м. Київ, 03056, Україна.

Орел В.Б.

Лабораторія електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини Інституту електрозварювання ім. Є. О. Патона НАН України, вул. Казимира Малевича, 11, м. Київ, 03150, Україна.

Курапов Ю.А., Литвин С.Є.

Де і коли впроваджено: Інститут електрозварювання ім. Є. О. Патона НАН України.

Термін впровадження: 2022–2024 рр.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач лабораторії електронно-променевої нанотехнології неорганічних матеріалів для медицини Інституту електрозварювання ім. Є. О. Патона НАН України

к.т.н., с.н.с.



Юрій КУРАПОВ



**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МАГНЕТИЗМУ ІМЕНІ В.Г. БАР'ЯХТАРА
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ
(ІМАГ НАН УКРАЇНИ)**

бульв. Вернадського, 36-б, м. Київ, 03142, тел. (факс) (044) 424 10 20
E-mail: imag@nas.gov.ua, <http://imag.kiev.ua>
код за ЄДРПОУ 23494128

10.02.2025 № 83-44/01-6

**Лист підтримки щодо результатів дисертаційної роботи
Орла Валерія Бінговича на здобуття наукового ступеня доктора філософії за
темою «Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики
експериментальної злоякісної пухлини»**

За результатами розгляду та обговорення результатів дисертаційного дослідження здобувача ступеня доктора філософії Орла В.Б., аспіранта кафедри трансляційної медичної біоінженерії факультету біомедичної інженерії Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» на тему «Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики експериментальної злоякісної пухлини», представлених під час наукового семінару 11 грудня 2024 р. в Інституті магнетизму імені В.Г. Бар'яхтара Національної академії наук України, зазначаємо, що дисертаційна робота є завершеною науковою працею, містить наукову новизну та виконана на належному науково-практичному рівні.

Актуальність роботи обумовлена сучасною необхідністю розробки біоінженерних засобів для реалізації магнітної нанотераностики злоякісних пухлин, що ґрунтується на магніто-механохімічному ефекті, ініційованому магнітними наночастинками під дією зовнішніх постійних магнітних і змінних електромагнітних полів. У дисертаційній роботі розглянуто як базові питання щодо механізмів ініціації та модуляції магніто-механохімічного ефекту, так і проблеми реалізації біоінженерних засобів для візуалізації й протипухлинного впливу на експериментальні моделі злоякісної пухлини, зокрема технічне рішення у пристрої для реєстрації механолюмінесценції злоякісних клітин, ініційованої впливом магнітних наночастинок і ротаційного магнітного поля; дизайн тканинноквівалентного фантома грудної

залози, що дозволяє візуалізувати просторовий розподіл кластерів магнітних наночастинок і зміни біомеханічних параметрів з метою персоналізованого планування індукційної помірної гіпертермії злоякісних пухлин; дослідження впливу магнітних наночастинок на основі оксиду заліза і золота, навантажених протипухлинним препаратом доксорубіцином, у комбінації з магнітно-дипольним аплікатором для індукційної помірної гіпертермії на радіологічну візуалізацію, текстурні параметри, рівні убісеміхінону, супероксидного радикала, оксиду азоту та кінетику росту карциносаркоми Уокер-256.

Дисертант Орел В.Б. продемонстрував високий рівень обґрунтування власних наукових результатів, критичне мислення, розуміння досліджуваної проблематики у публічній науковій дискусії. За результатами досліджень опубліковано 20 наукових праць, у тому числі 2 роботи у фахових наукових виданнях України, 5 робіт у міжнародних фахових наукових виданнях, проіндексованих у базах Scopus та/або Web of Science Core Collection (2 роботи віднесені до квартилю Q1, 2 роботи – до Q2, 1 робота – до Q4), 1 патент України на винахід, що пройшов кваліфікаційну експертизу, 1 патент України на корисну модель, 11 тез виступів на наукових конференціях і конгресах.

Висновок: дисертаційна робота «Розробка біоінженерних засобів магнітної нанотераностики експериментальної злоякісної пухлини» відповідає вимогам для дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії та може бути рекомендована до захисту. Автор дисертації, Орел Валерій Бінгович, заслуговує на присудження йому наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 163 «Біомедична інженерія».

Директор

Інституту магнетизму

ім. В.Г. Бар'яхтара НАН України,

доктор фізико-математичних наук, професор,

член-кореспондент НАН України



Олександр ТОВСТОЛИТКІН

Τομέας Φυσικής Στερεάς Καταστάσεως,
Υλικών και Επιφανειών (IV)
Τμήμα Φυσικής
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
Τ.Θ. 1186, 451 10 Ιωάννινα



Division of Solid State Physics,
Materials and Surfaces (IV)
Department of Physics
University of Ioannina
P.O. Box 1186, 451 10
Ioannina, GREECE

Ioannina, 03/01/2025

Letter of Support

Dear Sir/Madam,

It is with pleasure that I am writing to express my support for the doctoral thesis of Valerii B. Orel, entitled "Design of bioengineering devices for cancer magnetic nanotheranostics in experimental models of a malignant tumour".

Lately, a lot of research is aimed in the development of novel nano-composites with multiple functionalities as part of the exciting new field, theranostics, combining therapeutics and diagnostics in one platform. This thesis proposes designs for biomedical devices to personalise the magneto-mechanochemical effects initiated by magnetic nanoparticles under the influence of electromagnetic irradiation for cancer theranostic applications and represents a significant contribution to this field.

The research presented in the thesis is closely related to our collaborative work as part of the research project "Magnetic Nanotechnology for Cancer Treatment" (Innovate UK, UK Research and Innovation). Valerii B. Orel made substantial contributions to this collaborative work, leading to several publications, some of which are listed below. In my interactions with him, I found him to be a diligent, highly motivated and insightful researcher and I would very much welcome the opportunity to work with him again in the future. It is my belief that he would be a valuable member in any scientific team that he may join after earning his Doctoral Degree.

Should you need more information, please do not hesitate to contact me, it will be my pleasure to provide.

List of our joint publications:

1. V.E. Orel, M. Tselepi, T. Mitrelias, A.D. Shevchenko, O.Y. Rykhalskiy, T.S. Golovko, O.V. Ganich, A.V. Romanov, V.B. Orel, A.P. Burlaka, S. N. Lukin, C.H.W. Barnes. Magnetic Resonance Cancer Nanotheranostics. In: Lhotska, L., Sukupova, L., Lacković, I., Ibbott, G. (eds) World Congress on

Τηλ. 265100-8732, e-mail: mtselepi@uoi.gr

Medical Physics and Biomedical Engineering, 2018. IFMBE Proceedings, 68/3, 651–654, Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-10-9023-3_120.

2. V.E. Orel, M. Tselepi, T. Mitrelias, A. Rykhalskyi, A. Romanov, V.B. Orel, A. Shevchenko, A. Burlaka, S. Lukin, C.H.W. Barnes. Nanomagnetic Modulation of Tumor Redox State. *Nanomedicine*. 2018, 14, 4, 1249–1256. doi: 10.1016/j.nano.2018.03.002.
3. V.E. Orel, M. Tselepi, T. Mitrelias, M. Zabolotny, A. Shevchenko, A. Rykhalskyi, A. Romanov, V.B. Orel, A. Burlaka, S. Lukin, V. Kyiashko, C.H.W. Barnes. The comparison between superparamagnetic and ferromagnetic iron oxide nanoparticles for cancer nanotherapy in the magnetic resonance system. *Nanotechnology*. 2019, 30, 41, 415701. doi: 10.1088/1361-6528/ab2ea7.
4. Orel V.E., Tselepi M., Mitrelias T., Zabolotny M., Krotevich M., Shevchenko A., Rykhalskyi A., Romanov A., Orel V.B., Burlaka A., Lukin S., Stegnii V., Barnes C.H.W. Nonlinear Magnetochemical Effects in Nanotherapy of Walker-256 Carcinosarcoma. *ACS Applied Bio Materials*. 2019, 2, 9, 3954–3963. doi: 10.1021/acsabm.9b00526.

Yours faithfully,



Marina Tselepi
Assistant Professor



GEORGETOWN UNIVERSITY
Georgetown University Medical Center

January 25th, 2025

To Whom It May Concern,

I am pleased to write this letter in support of Valerii B. Orel's doctoral thesis, titled "*Design of Bioengineering Devices for Cancer Magnetic Nanotheranostics in Experimental Models of a Malignant Tumor.*" This groundbreaking research focuses on developing innovative bioengineering devices to personalize magneto-mechanochemical effects induced by magnetic nanoparticles and electromagnetic fields in malignant tumors, thereby advancing cancer theranostics toward clinical application.

This research aligns closely with our collaborative efforts between Georgetown University Medical Center, Washington DC, USA and the National Cancer Institute of Ukraine, Kiev, Ukraine. Through this collaboration, I had the privilege of working with Valerii on a project investigating the combined effects of non-ionizing electromagnetic fields and the chemotherapeutic agent doxorubicin on tumor growth and liver oxidative stress in Walker-256 carcinosarcoma-bearing rats.

Valerii made significant contributions to this work by designing and refining experimental setups, applying biomedical engineering principles to optimize therapeutic approaches, and rigorously analyzing treatment responses. His ability to integrate biomedical engineering methodologies with preclinical experiments was instrumental in ensuring the reliability, precision, and impact of our findings. This collaborative work resulted in a peer-reviewed publication: Orel V.E., Krotevych M., Dasyukevich O., Rykhalskyi O., Syvak L., Tsvir H., Tsvir D., Garmanchuk L., Orel V.B., Sheina I., Rybka V., Shults N.V., Suzuki Y.J., Gychka S.G. Effects induced by a 50 Hz electromagnetic field and doxorubicin on Walker-256 carcinosarcoma growth and hepatic redox state in rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 2021, 40(4), 475-487. doi: 10.1080/15368378.2021.1958342.

Valerii's doctoral research represents a clinically significant step forward in developing effective therapeutic strategies to combat cancer progression. His work demonstrates a deep understanding of bioengineering principles, innovation in experimental design, and dedication to advancing translational cancer research.

I am confident that Valerii's thesis will make a meaningful contribution to the field of cancer nanotheranostics and provide a foundation for the development of effective therapeutic approaches. I strongly support his work and its potential for significant clinical impact.

Sincerely,

Nataliia V. Shults, M.D., Ph.D.
Assistant Research Professor



Letter of Support

Cambridge, 30/12/2024

Dear Sir/Madam,

On behalf of Cambridge BioMagnetics Ltd, a spin off The University of Cambridge, I am reaching out to express our strong support for the doctoral thesis of Valerii B. Orel, entitled “Design of bioengineering devices for cancer magnetic nanotheranostics in experimental models of a malignant tumour”. This thesis presents designs for biomedical devices aimed at personalising the magneto-mechanochemical effects initiated by magnetic nanoparticles under the influence of external electromagnetic irradiation for cancer theranostics.

This research is closely aligned with our collaborative work between the University of Cambridge and the National Cancer Institute of Ukraine undertaken as part of the research project “Magnetic Nanotechnology for Cancer Treatment” (The Royal Society, Innovate UK, UK Research and Innovation). Valerii B. Orel actively participated in this project, contributing to its execution and outcomes. He has consistently been a highly valuable partner in our project, as we have been working with him for more than 6 years now.

His scientific contributions, some of which are highlighted in the publications below, are well above the level one would expect based on his experience. Furthermore, he has been a pleasure to work with and we look very much forward to continuing our collaborative project with him, once he has been awarded his Doctoral Degree. Awarding his Degree is an important milestone for our work, as it will strengthen our team and enable us to continue with our impactful research that has the potential to transform cancer treatment and benefit society worldwide.

The key findings of our research are included in the following joint publications:

1. V.E. Orel, M. Tselepi, T. Mitrelias, A.D. Shevchenko, O.Y. Rykhalskiy, T.S. Golovko, O.V. Ganich, A.V. Romanov, V.B. Orel, A.P. Burlaka, S. N. Lukin, C.H.W. Barnes. Magnetic Resonance Cancer Nanotheranostics. In: Lhotska, L., Sukupova, L., Lacković, I., Ibbott, G. (eds)


Cambridge BioMagnetics Ltd. Registered in England and Wales No 6609337 1
Registered Address: Unit 1, Cambridge House Camboro Business Park, Oakington Road, Girton, Cambridge, Cambridgeshire, United Kingdom, CB3 0QH

C A M B R I D G E BIO μ MAGNETICS

- World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, 2018. IFMBE Proceedings, 68/3, 651–654, Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-10-9023-3_120.
2. V.E. Orel, M. Tselepi, T. Mitrelias, A. Rykhalskyi, A. Romanov, V.B. Orel, A. Shevchenko, A. Burlaka, S. Lukin, C.H.W. Barnes. Nanomagnetic Modulation of Tumor Redox State. *Nanomedicine*. 2018, 14, 4, 1249–1256. doi: 10.1016/j.nano.2018.03.002.
 3. V.E. Orel, M. Tselepi, T. Mitrelias, M. Zabolotny, A. Shevchenko, A. Rykhalskyi, A. Romanov, V.B. Orel, A. Burlaka, S. Lukin, V. Kyiashko, C.H.W. Barnes. The comparison between superparamagnetic and ferromagnetic iron oxide nanoparticles for cancer nanotherapy in the magnetic resonance system. *Nanotechnology*. 2019, 30, 41, 415701. doi: 10.1088/1361-6528/ab2ea7.
 4. Orel V.E., Tselepi M., Mitrelias T., Zabolotny M., Krotevich M., Shevchenko A., Rykhalskyi A., Romanov A., Orel V.B., Burlaka A., Lukin S., Stegnii V., Barnes C.H.W. Nonlinear Magnetochemical Effects in Nanotherapy of Walker-256 Carcinosarcoma. *ACS Applied Bio Materials*. 2019, 2, 9, 3954–3963. doi: 10.1021/acsabm.9b00526.

Please do not hesitate to contact me, should you require any clarifications.

Your sincerely,



Dr Thanos Mitrelias
Founding Director