# Контрастирование сосудов и замедление роста опухолей при введении систем на основе магнитных наночастиц, модифицированных сывороточным альбумином с применением свободнорадикального способа



А.В. Бычкова<sup>1</sup>, М.Н. Якунина<sup>2</sup>, М.В. Лопухова<sup>1</sup>, В.С. Покровский<sup>1–3</sup>, М.С. Вересова<sup>1</sup>, М.Э. Суханова<sup>3</sup>, В.В. Каспаров<sup>1</sup>, Д.С. Хачатрян<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

#### АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Наносистемы на основе магнитных наночастиц (МНЧ) оксидов железа с покрытием из человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) обладают набором уникальных характеристик, делающим их использование перспективным в диагностике и лечении опухолей.

**Цель.** Исследовать на моделях *in vitro* и *in vivo* возможности применения разработанных нами систем на основе МНЧ магнетита, модифицированных ЧСА с применением свободнорадикального способа, для контрастирования опухолей и замедления их роста.

**Материалы и методы.** Устойчивость и целостность покрытия из альбумина, сформированного на синтезированных наночастицах в результате адсорбции белка и закрепления адсорбированных молекул альбумина на наночастицах вследствие модификации альбумина под действием гидроксил-радикала, образующегося в Фентонподобной реакции, контролировали по изменению кажущейся оптической плотности на 450 нм при добавлении иммуноглобулина G. После подтверждения *in vitro* контрастирующих свойств и возможных последствий контакта МНЧ и наносистем с кровью путём агглютинационного теста наносистемы, содержащие МНЧ и ЧСА, вводили внутриартериально в имплантированные крысам опухоли в дозе 20–60 мкг на животное и изучали *in vivo* контрастирующие свойства с помощью рентгенографии и компьютерной томографии. Воздействие наносистем на опухоль оценивали по индексу прироста опухоли (ИПО) и по результатам патоморфологического исследования.

Результаты. Для получения наносистем совместную инкубацию МНЧ и ЧСА проводили в течение 24 ч в присутствии пероксида водорода, затем подвергали магнитной сепарации. Устойчивость и целостность белковых покрытий подтверждали при добавлении иммуноглобулина G. Исследования *in vitro* показали, что полученный препарат наносистем в водной среде с концентрацией по МНЧ 200 мкг/мл не приводит к агглютинации форменных элементов крови и обладает выраженным контрастированием. Контрастирование сосудов *in vivo*, зарегистрированное через 30 мин после внутриартериального введения, сохранялось в течение 14 дней наблюдения. Исследование переносимости не выявило неблагоприятных побочных действий. При введении наносистем отмечено значимое торможение роста опухоли по сравнению с группами контроля (*p* ≤0,05). Так, опухоли без введения наносистем достигали за время наблюдения объёма 95 726,9±38 040,3 мм<sup>3</sup> — ИПО составил 11±4,5. В группах крыс, получивших наносистемы в дозе 20 мкг по МНЧ, опухоли выросли до 49 801±6011,2 мм<sup>3</sup> (ИПО 4,7±0,5), в дозе 40 мкг по МНЧ — до 54 670,2±17 983,4 мм<sup>3</sup> (ИПО 5,5±1,4), в дозе 60 мкг по МНЧ — до 43 342,5±14 637,2 мм<sup>3</sup> (ИПО 4,5±1,3).

Заключение. Показано устойчивое контрастирование сосудов опухоли при введении наносистем на основе МНЧ и ЧСА и их цитотоксическое воздействие на опухоль, что даёт основание считать разработанные нами наносистемы перспективными для тераностики опухолей.

**Ключевые слова:** человеческий сывороточный альбумин; магнитные наночастицы; тераностика; контрастирование; замедление роста опухоли.

#### Как цитировать:

Бычкова А.В., Якунина М.Н., Лопухова М.В., Покровский В.С., Вересова М.С., Суханова М.Э., Каспаров В.В., Хачатрян Д.С. Контрастирование сосудов и замедление роста опухолей при введении систем на основе магнитных наночастиц, модифицированных сывороточным альбумином с применением свободнорадикального способа // Российский онкологический журнал. 2024. Т. 29, № 3. С. 245–257. DOI: https://doi.org/10.17816/onco642483

Рукопись получена: 03.12.2024

Рукопись одобрена: 17.12.2024

Опубликована online: 17.12.2024



DOI: https://doi.org/10.17816/onco642483

# Vessel visualization and inhibition of tumor growth after injection of nanosystems based on magnetic nanoparticles modified by serum albumin with free radical approach

Anna V. Bychkova<sup>1</sup>, Marina N. Yakunina<sup>2</sup>, Mariia V. Lopukhova<sup>1</sup>, Vadim S. Pokrovsky<sup>1–3</sup>, Mariia S. Veresova<sup>1</sup>, Marina E. Sukhanova<sup>3</sup>, Valery V. Kasparov<sup>1</sup>, Derenik S. Khachatryan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup> Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Nanosystems based on magnetic nanoparticles (MNPs) of iron oxides coated with human serum albumin (HSA) have a set of unique characteristics that make their use promising in the diagnosis and treatment of tumors.

**AIM:** To investigate, using in vitro and in vivo models, the possibilities of using the systems we developed based on MNPs magnetite, modified by HSA using the free radical method, for contrasting tumors and slowing their growth.

**MATERIALS AND METHODS:** The stability and integrity of the albumin coating formed on synthesized nanoparticles as a result of protein adsorption and fixation of adsorbed albumin molecules on nanoparticles due to modification of albumin by the action of a hydroxyl radical formed in a Fenton-like reaction was controlled by a change in the apparent optical density by 450 nm with the addition of immunoglobulin G. After in vitro confirmation of the contrasting properties and possible consequences of the contact of MNPs and nanosystems with blood by agglutination test, nanosystems containing MNPs and HSA were injected intraarterially into tumors implanted in rats at a dose of 20–60 µg per animal and the contrasting properties were studied in vivo using radiography and computed tomography. The effect of nanosystems on the tumor was assessed by the tumor growth index (TGI) and by the results of a pathomorphological study.

**RESULTS:** To obtain nanosystems, joint incubation of MNPs and HSA was carried out for 24 hours in the presence of hydrogen peroxide, then subjected to magnetic separation. The stability and integrity of the protein coatings were confirmed with the addition of immunoglobulin G. In vitro studies have shown that the resulting nanosystem preparation in an aqueous medium with a MNPs concentration of 200 µg/ml does not lead to agglutination of blood cells and has a pronounced contrast. Vascular contrast in vivo, recorded 30 minutes after intraarterial administration, persisted for 14 days of follow-up. The tolerability study did not reveal any adverse side effects. With the introduction of nanosystems, a significant inhibition of tumor growth was noted compared with the control groups ( $p \le 0.05$ ). Thus, tumors without the introduction of nanosystems reached a volume of 95,726.9±38,040.3 mm<sup>3</sup> during the observation period — the TGI was 11±4.5. In the groups of rats treated with nanosystems at a dose of 20 micrograms of MNPs, tumors grew to 49,801±6011.2 mm<sup>3</sup> (TGI 4.7±0.5), at a dose of 40 µg of MNPs — to 54,670.2±17 983.4 mm<sup>3</sup> (IPO 5.5±1.4), at a dose of 60 µg of MNPs — to 43,342.5±14,637.2 mm<sup>3</sup> (TGI 4.5±1.3).

**CONCLUSION:** The steady contrast of tumor vessels with the introduction of nanosystems based on MNPs and HSA and their cytotoxic effect on the tumor is shown, which gives reason to consider the nanosystems developed by us promising for tumor theranostics.

Keywords: human serum albumin; magnetic nanoparticles; theranostics; contrasting; tumor inhibition.

## To cite this article:

Bychkova AV, Yakunina MN, Lopukhova MV, Pokrovsky VS, Veresova MS, Sukhanova ME, Kasparov VV, Khachatryan DS. Vessel visualization and inhibition of tumor growth after injection of nanosystems based on magnetic nanoparticles modified by serum albumin with free radical approach. *Russian Journal of Oncology*. 2024;29(3):245–257. DOI: https://doi.org/10.17816/onco642483

Submitted: 03.12.2024

Accepted: 17.12.2024



# ОБОСНОВАНИЕ

В последние десятилетия интенсивно изучаются возможности применения магнитных наночастиц (МНЧ) смешанного оксида железа (магнетита: FeO×Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, или Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) для диагностики и лечения различных заболеваний. Свойства таких наночастиц — магнитоуправляемость, способность к нагреву под действием переменного высокочастотного поля, изменение контрастности изображений [1, 2] — позволяют создавать на их основе функциональные системы с покрытием (рис. 1), например белковым, воздействующие на опухоль посредством гипертермии и доставляемых лекарственных препаратов [3–5], а также улучшающие визуализацию при магнитно-резонансной томографии (MPT) и компьютерной томографии (KT) [6, 7].

Покрытие наночастиц человеческим сывороточным альбумином (ЧСА) обеспечивает стабильность и биосовместимость наносистем, способствует длительной циркуляции и адресной доставке, защищая магнитное ядро от воздействия биологических жидкостей и предотвращая агломерацию частиц, при этом позволяя присоединять к нему биологически активные вещества. Альбумин — преобладающий белок плазмы (60%), выполняет функцию переносчика как эндогенных, так и экзогенных молекул, снижая их токсичность и скорость выведения [8, 9]. Покрытие на основе ЧСА способствует быстрому усвоению наносистем клетками и сохранности транспортируемого лекарства, в том числе препаратов для фотодинамической терапии [10–14].

Благодаря биоразлагаемости, отсутствию токсичности и иммуногенности альбумин также целесообразно использовать для покрытия МНЧ. Опухолевые клетки поглощают больше альбумина, чем нормальные [3], и в некоторых опухолях он может накапливаться [8]. Наночастицы магнетита с альбуминовым покрытием используют для транспортировки лекарственных препаратов [15] и их пролонгированного высвобождения [16], визуализации [17, 18] и лечения рака с помощью фотодинамической терапии [19], чему способствует долговременное сохранение наносистем в опухолевой ткани [20]. Для использования наносистем в клинической практике необходимо тщательное исследование свойств конкретных наночастиц с белковым покрытием и оценка их переносимости, специфической активности и контрастирующих свойств на экспериментальных моделях, в том числе предполагающая введение наносистем внутриартериально (в/а) в имплантированные опухоли.

**Цель исследования** — исследование на моделях *in vitro* и *in vivo* возможностей дальнейшего применения разработанных нами систем на основе МНЧ магнетита и ЧСА для векторной доставки лекарственных препаратов, гипертермии и магнитно-резонансных исследований опухолевых тканей, а также оценка их переносимости и побочных действий.

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

# Объекты исследования

В работе исследованы созданные нами наносистемы диаметром 20-50 нм на основе МНЧ смешанного оксида железа, синтезированного и стабилизированного по методике, представленной в работе Прусакова В.Е. и соавт. [21], с белковым покрытием из ЧСА, которые получены путём адсорбции белка и закрепления свободнорадикальным методом на поверхности МНЧ молекул ЧСА [22] по Фентонподобной реакции (рис. 2), как описано в наших предыдущих работах [23, 24]. Методика позволяет сохранять функциональные свойства альбумина на поверхности МНЧ [25, 26] и включает приготовление реакционной системы, содержащей ЧСА и МНЧ в 0,05 М фосфатном буфере pH 6,5 с добавлением пероксида водорода. Для подбора условий нанесения покрытия из ЧСА на поверхность МНЧ концентрацию ЧСА варьировали от 0,4 до 3,2 мг/мл при постоянной концентрации МНЧ 0,2 мг/мл.

Для оценки прочности белкового покрытия на поверхности частиц использовали методику с применением иммуноглобулина G (IgG), обладающего высоким сродством к поверхности наночастиц [27, 28] и свойством агрегировать с МНЧ, определяемым особенностями структуры









**Fig. 2.** Fenton-like reaction on magnetic nanoparticles surface in the absence (1) and in the presence (2) of human serum albumin: 4CA — human serum albumin.

альбуминового покрытия на МНЧ (устойчивостью и целостностью покрытия) [24], формируя агрегаты на основе МНЧ и IgG субмикронного и микронного размера. О сохранности адсорбционного слоя судили по изменению оптической плотности при добавлении к наносистемам иммуноглобулина G, а также по размерам частиц. Результаты оценивали с помощью спектрофотометра СФ-2000 («Спектр», Россия) на длине волны 450 нм и прибора динамического светорассеяния Zetasizer Nano S (Malvern, Великобритания), который использовали также для детекции размеров синтезированных МНЧ и наносистем. Доказана стабильность золя при хранении в течение 14 сут, достаточная для ввода образца в модели животных.

## Условия и продолжительность исследования

Исследования проводились на базе Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук и Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина с февраля 2019 г. по октябрь 2022 г.

## Агглютинационный тест

Агглютинацию оценивали под контролем световой микроскопии. Для исследования цельную кровь и препараты МНЧ и наносистем смешивали в соотношении 1:1 на предметном стекле и анализировали при увеличении в 400 раз. Критерий оценки — отсутствие агглютинации эритроцитов в поле зрения.

## Сформированные группы

Исследование противоопухолевой активности выполнено на 8-недельных половозрелых крысах-самцах массой тела 80–100 г с трансплантированным внутримышечно (в/м) гепатоцеллюлярным раком печени крыс PC1 из банка учреждения. Для моделирования опухоли PC-1 в заднюю группу мышц бедра (бассейн кровоснабжения бедренной артерии, arteria femoralis) вводили по 0,25 мл 20% взвеси опухолевой ткани в растворе Хенкса.

Золь наносистем с концентрацией 0,2 мг/мл по МНЧ вводили однократно в/а крысам с развившимся опухолевым узлом V<sub>cp</sub>=6,0-6,5 см<sup>3</sup> (*n*=20) в 3 различных дозах и V<sub>cp</sub>=9,5-10,5 см<sup>3</sup> (*n*=10), контрольные и опытные группы включали по 5 животных. Хирургический доступ к бедренной артерии крыс выполняли под наркозом с помощью препарата Золетил-100 (Virbac, Франция) в/м и соответствующего инструментария. Препарат вводили струйно, используя инфузионную систему, составленную из в/в периферического катетера «бабочка» G27 (Troge, Германия) и пластикового шприца 1,0 мл без иглы.

## Оценка контрастирующих свойств

Исследование контрастирующих свойств систем на основе МНЧ и ЧСА *in vivo* проведено методами рентгенографии и КТ после предварительной оценки возможности контрастирования при КТ *in vitro*. Оценку контрастирования в/м опухоли у крыс проводили двукратно — через 30 мин и через 14 дней после однократного в/а введения в диапазоне доз 0,1 мл (*n*=5), 0,2 мл (*n*=5) и 0,3 мл (*n*=5) золя наносистем на лапку, что соответствует 20, 40 и 60 мкг МНЧ. Группа отрицательного контроля получила в/а 1,0 мл физиологического раствора.

#### Оценка переносимости

Оценку переносимости *in vivo* проводили при в/а введении крысам под контролем локальной симптоматики: местно-раздражающее действие, болевой синдром на введение, ишемизация тканей лапки, самоампутация лапки (частичная — пальцы, полная). О возможной системной токсичности судили по ожидаемой гибели крыс.

## Оценка воздействия на рост опухолей

Ингибирование роста опухоли оценивали после однократного в/а введения наносистем: в диапазоне доз 0,1 (*n*=5), 0,2 (*n*=5) и 0,3 мл (*n*=5) для крыс с развившимся опухолевым узлом  $V_{cp}$ =6,0-6,5 см<sup>3</sup> и в дозе 0,3 мл (*n*=5) для крыс с развившимся опухолевым узлом  $V_{cp}$ =9,5-10,5 см<sup>3</sup> по уменьшению скорости роста развившейся опухоли, для чего измеряли объём опухоли до введения наносистем (до лечения), на 4, 7, 10, 13, 16 и 21-е сутки после лечения. Затем определяли  $V_{cp}$  опухолей (арифметическое среднее объёмов опухолей животных соответствующей группы) перед началом ( $V_0$ ) и на *t* сутки после начала лечения ( $V_t$ ).

Торможение роста опухоли (ТРО) оценивали по формуле, сравнивая различия в размерах опухолей между контрольной (V<sub>c</sub>) и опытной (V<sub>e</sub>) группами:

$$TPO = \left[\frac{V_c - V_e}{V_c}\right] \times 100\%$$

где V<sub>с</sub> — средний объём опухолей в контрольной группе, мм<sup>3</sup>, V<sub>е</sub> — средний объём опухолей в опытной группе, мм<sup>3</sup>. Значимыми считали значения ТРО ≥50%

По соотношению V<sub>t</sub>/V<sub>0</sub> рассчитывали ИПО в группах. Также использовали характеристику т — время удвоения объёма опухоли и К — коэффициент эффективности лечения в сравнении с группой контроля роста опухоли, рассчитываемый как соотношение (т опыта) / (т контроля).

Верификацию ингибирующего действия наносистем выполняли с помощью оценки лечебного патоморфоза в ткани РС1 после окончания эксперимента [29].

## Этическая экспертиза

Все эксперименты проводили в соответствии с международно признанными принципами использования лабораторных животных и ухода за ними, как описано в Директиве ЕС 2010/63/ЕU. Проведённая работа соответствует этическим принципам. Решение заседания Комиссии по биоэтике Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации 2022-8 от 11 июля 2022 г.

## Статистическая обработка

Результаты подвергали статистической обработке с помощью программы открытого доступа Statistica с использованием критерия T-test Фишера, значимыми считали различия при *р* <0,05.

# Подбор условий получения наносистем на основе магнитных наночастиц и человеческого сывороточного альбумина

Показано, что при варьируемом отношении концентраций наночастиц и ЧСА в реакционной системе (от 2 до 18 мг/мг) и варьируемом времени инкубации систем (30 мин, 90 мин, 24 ч) более прочное покрытие формируется за 1 сутки при концентрации ЧСА в реакционной системе выше 2 мг/мл, то есть при соотношении ЧСА/МНЧ, превышающем 10 мг/мг. Устойчивость покрытия к действию иммуноглобулина G (0,06 мг/мл) и целостность покрытия увеличиваются по мере повышения концентрации белка и времени инкубации реакционной системы (рис. 3). Соотношение ЧСА/МНЧ=10 мг/мг выбрано для закрепления покрытия по свободнорадикальному механизму, эффективность закрепления доказана также с применением иммуноглобулина G.

# КТ-исследование и рентгенография при применении наносистем

Исследование *in vitro* показало выраженное контрастирование. Плотность препарата составила от –54 до –120 единиц по шкале Хаунсфилда (HU), что соответствует плотности жировой/соединительной ткани. Изучение *in vivo* в диапазоне доз показало не зависящее



Рис. 3. Зависимость относительной оптической плотности от соотношения концентраций магнитных наночастиц (МНЧ) и человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) в реакционных системах после добавления иммуноглобулина G. Время инкубирования систем до добавления иммуноглобулина G: 1 — 30 мин, 2 — 90 мин, 3 — 24 ч.

**Fig. 3.** Dependence of relative optical density on the ratio of magnetic nanoparticles (MH4) and human serum albumin (4CA) concentrations in the reaction systems after immunoglobulin G addition. Incubation time of the systems before addition of immunoglobulin G: 1 — 30 minutes, 2 — 90 minutes, 3 — 24 hours.

от дозы выраженное контрастирование сосудистого русла опухоли. Плотность сосудов опухоли составила от -47 до -80 HU при плотности ткани опухоли от -24 до -26 HU. МНЧ показали выраженные и стойкие контрастирующие способности по результатам КТ-исследования. Контрастирование сосудов, выявленное через 30 мин после в/а введения, сохранялось в течение 14 дней наблюдения. Длительное сохранение контрастирующего эффекта при КТ-исследовании свидетельствует о стабилизации наносистем или МНЧ в сосудах опухоли (рис. 4), тогда как метод рентгенографии (рис. 5) не позволяет детектировать частицы.

## Переносимость препарата наносистем *in vitro* и *in vivo*

Исследование переносимости *in vitro* позволило установить, что МНЧ и препарат наносистем не приводят к агглютинации форменных элементов крови (рис. 6), таким образом, предполагается отсутствие тромбообразования при в/а ведении систем *in vivo*. При в/а введении крысам с в/м трансплантированным PC-1 доказана хорошая переносимость препарата, болевой синдром не зарегистрирован ни у одного животного. В течение всего периода наблюдения не отмечено местно-раздражающего действия (цианотичности, отёков, некроза, отторжения тканей), системной токсичности, снижения массы тела или гибели.

## Ингибирующее действие наносистем на опухоли и количественное определение параметров ингибирования

Эксперимент по воздействию наносистем на опухоль начинали при достижении объёма, обеспечивающего выраженное сосудистое русло. Предварительные результаты исследований показали, что развивающиеся в мышцах бедра крыс с лигированной бедренной артерией опухолевые узлы без лечения (группа контроля) после трансплантации растут быстро: удвоение опухолевой массы зарегистрировано примерно на 5-й день наблюдения. Измерение опухолей в группах контрольных и опытных животных показано на примере опухолей с размерами в начале лечения V<sub>сп</sub>=9,5–10,5 см<sup>3</sup>. Так, опухоли достигают на 21-е сутки роста (начало лечения) объёмов, соответствующих V<sub>0</sub>=9107,4±506,5 мм<sup>3</sup>, а на 34-е сутки (окончание наблюдения) — V<sub>14</sub>=95 726,9±38 040,3 мм<sup>3</sup>. В этот период ИПО составил  $V_{td}/v_0$ =11±4,5. В группе крыс, получавших в/а наносистемы в дозе 0,1 мл (20 мкг по МНЧ), опухоли с исходным объёмом в начале лечения V<sub>0</sub>=10 523,2±1026,2 мм<sup>3</sup> на 13-й день наблюдения выросли



**Рис. 4.** КТ-исследование опухолевого узла под двумя разными углами (в поперечной и сагиттальной плоскостях) в бедренной мышце крысы через 30 мин (1, 2) и 14 дней (3, 4) после введения наносистем на основе магнитных наночастиц и человеческого сывороточного альбумина (в количестве 60 мкг по магнитным наночастицам).

**Fig. 4.** CT imaging of the tumor node from two different angles (transverse and sagittal planes) in the rat femoral muscle after 30 minutes (1, 2) and 14 days (3, 4) after the injection of nanosystems based on magnetic nanoparticles and human serum albumin (corresponding to 60 µg magnetic nanoparticles).



**Рис. 5.** Рентгенологическое исследование через 30 мин после введения наносистем на основе магнитных наночастиц и человеческого сывороточного альбумина в количестве 40 мкг по магнитным наночастицам (1) и через 14 дней после введения наносистем в количестве 20 мкг (2), 40 мкг (3) и 60 мкг (4) по магнитным наночастицам.

**Fig. 5.** X-ray imaging after 30 minutes after injection of nanosystems corresponding to 40 µg of magnetic nanoparticles (1) and 14 days after injection of nanosystems corresponding to 20 µg (3), 40 µg (3) and 60 µg (4) of magnetic nanoparticles.



**Рис. 6.** Микроскопическое исследование цельной крови и препарата магнитных наночастиц 1:1 (увеличение микроскопа при ×400).

**Fig. 6.** Microscopic imaging of whole blood and magnetic nanoparticles 1:1 (magnification ×400).

до V<sub>t4</sub>=49 801,0±6011,2 мм<sup>3</sup>. ИПО составил V<sub>t4</sub>/V<sub>0</sub>=4,7±0,5. Увеличение однократной дозы препарата до 0,2 мл (40 мкг по МНЧ) и 0,3 мл (60 мкг по МНЧ) показало схожие клинические результаты. На 13-е сутки после введения наносистем опухоли увеличились до V<sub>t4</sub>=54 670,2±17 983,4 мм<sup>3</sup> (против V<sub>0</sub>=10 164,9±2645,9 мм<sup>3</sup>) и до V<sub>t4</sub>=43 342,5±14 637,2 мм<sup>3</sup> (против V<sub>0</sub>=7739,5±3388,7 мм<sup>3</sup>) соответственно. ИПО в этих группах составил V<sub>t4</sub>/V<sub>0</sub>=5,5±1,4 и V<sub>t4</sub>/V<sub>0</sub>=4,5±1,3 соответственно. В группах эксперимента отмечено двукратное замедление

роста опухоли по сравнению с группами контроля, удвоение объёма опухоли зарегистрировано на 10–11-й день после введения наносистем на основе МНЧ и ЧСА. На рис. 7 представлены результаты определения ИПО в экспериментах, проведённых на опухолях с размерами в начале лечения 6,0–6,5 и 9,5–10,5 см<sup>3</sup>, характеризуемые значимым ТРО, а на рис. 8 — данные по времени удвоения объёма опухоли (т) и коэффициенту эффективности лечения в сравнении с группой контроля роста опухоли К, иллюстрирующие замедление роста опухоли в присутствии наносистем.

## Анализ лечебного патоморфоза

Анализ лечебного патоморфоза показал соответствие эффективности замедления роста увеличению площади некроза в опухоли. В контрольной группе общая площадь некроза составила 25–30% опухоли. В группе эксперимента отмечено двукратное увеличение площади некроза она составила в разных срезах 50–75% опухоли.

# ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования подтверждают, что разработанные наносистемы (МНЧ с альбуминовым покрытием) могут быть пригодны для использования в тераностике онкологических заболеваний. Потенциально их можно применять для мультимодальной визуализации [7, 30] с помощью КТ и МРТ и одновременно для адресной доставки лекарственных средств, закреплённых на белковой поверхности частиц, и/или вызванной гипертермии опухолевой ткани из-за воздействия электрическим током на магнитное ядро наночастиц.



**Рис. 7.** Влияние наносистем на основе магнитных наночастиц и человеческого сывороточного альбумина, введённых в количестве 60 мкг (по массе магнитных наночастиц), на индекс прироста опухолей (ИПО), характеризуемых размерами в начале лечения V<sub>cp</sub>=9,5–10,5 см<sup>3</sup> (1, 2) и V<sub>cp</sub>=6,0–6,5 см<sup>3</sup> (3, 4).

**Fig. 7.** The effect of nanosystems injected in an amount of 60 µg by magnetic nanoparticles on the tumor growth index (TGI), characterized by the size at the beginning of treatment  $V_{av}$ =9.5-10.5 cm<sup>3</sup> (1, 2) and  $V_{av}$ =6.0-6.5 cm<sup>3</sup> (3, 4).

Введение наносистем не приводило к немедленным или отсроченным побочным реакциям за время наблюдения, что говорит в пользу безопасности диагностического и терапевтического воздействия на опухоли с использованием наносистем. Полученные результаты делают наносистемы на основе МНЧ и ЧСА привлекательными объектами для дальнейшей модификации как лекарственными веществами, так и биовекторами для их нацеленного воздействия на опухоли в живом организме.

Предложенный нами способ получения белкового покрытия на поверхности МНЧ в условиях 10-кратного массового избытка молекул ЧСА, обеспечивающего целостность и устойчивость покрытия, и образования свободных радикалов путём Фентонподобной реакции обеспечивает получение наносистем, которые показали свою применимость в физиологических условиях. Кроме того, метод нанесения альбумина на наночастицы без токсичных сшивающих агентов повышает безопасность использования наносистем.

Выявленная в исследовании стойкая фиксация наносистем (МНЧ) в мелких сосудах опухоли даёт основание предполагать ингибирование роста опухоли под действием наносистем из-за эффекта эмболизации [31]. Тогда как эмболизация, вероятно, достигается в настоящей работе введением наносистем в артерию, питающую опухоль. В будущих исследованиях планируется проверка возможности локализовать наносистемы в опухоли, используя свойства магнитного ядра при системном введении.



Рис. 8. Влияние наносистем на основе магнитных наночастиц и человеческого сывороточного альбумина, введённых в различных количествах по массе магнитных наночастиц: группа 1 — 0 мкг, группа 2 — 20 мкг, группа 3 — 40 мкг, группа 4 — 60 мкг; т время удвоения объёма опухоли; числа, расположенные над столбцами, представляют собой коэффициент эффективности терапии в сравнении с контрольной группой, в которой наблюдался рост опухоли (K).

**Fig. 8.** The effect of nanosystems injected in various quantities: group  $1 - 0 \mu g$ , group  $2 - 20 \mu g$ , group  $3 - 40 \mu g$ , group  $4 - 60 \mu g$  (by magnetic nanoparticles) on the time of doubling the volume of the tumor. The numbers above the columns represent the coefficient of treatment effectiveness in comparison with the control group where tumor growth was observed (K).

Важно отметить, что наночастицы, покрытые ЧСА, катализируют образование активных форм кислорода *in vivo*, вызывая повреждение клеток, и эффективны для подавления роста опухоли путём ферроптоза, что продемонстрировано в нескольких исследованиях [32–35]. В наших предыдущих исследованиях [36, 37] с помощью колориметрического теста мы доказали пероксидазоподобную активность наших МНЧ в присутствии ЧСА и наносистем, сохраняющуюся в течение по меньшей мере 7 дней после их синтеза, однако для объяснения ферроптозом выявленного в настоящей работе цитотоксического эффекта на клетки опухоли, приводящего к замедлению её роста, требуются дополнительные исследования.

В целом результаты исследования подтвердили стабильность созданных нами наносистем и долговременное пребывание в кровеносных сосудах опухоли, позволяющее визуализировать их с помощью КТ и МРТ, и замедление роста опухоли под действием наносистем при их в/а введении в месте локализации опухоли. Это позволяет прогнозировать возможность эффективного использования наших наносистем в тераностике опухолей, включая долгосрочную терапию и фототераностику при лечении глубоко расположенных опухолей [38]. Также следует отметить, что обеспечение эмболизирующего действия наносистем на сосуды опухоли, применение частиц с магнитными свойствами (в частности, наночастиц оксидов железа) и частиц на основе альбумина — современные активно исследуемые подходы в борьбе с гепатоцеллюлярным раком [39].

## Ограничения исследования

Несмотря на показанные результаты, наши эксперименты не дают ответов на вопросы долговременных эффектов наносистем in vivo, в том числе о возможности отложенных токсических побочных действий после более длительного воздействия на опухоль. Кроме того, дополнительного изучения требуют вопросы о времени удержания наносистем на основе МНЧ и ЧСА в опухолях и их распределения в других органах, влияния на здоровые ткани, зависимости эффекта от способа введения наносистем. Кроме того, следует отметить, что результаты, полученные в экспериментах на животных моделях, невозможно автоматически экстраполировать на клиническую ситуацию. В связи с отсутствием контроля в виде МНЧ без покрытия невозможно утверждать, что слой из ЧСА оказывает дополнительное влияние на аккумуляцию наносистем в сосудах опухоли и что в сосудах детектируются МНЧ не без покрытия, а в составе наносистем. Ответы на некоторые из этих вопросов мы сможем получить на следующих этапах наших исследований.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наночастицы магнетита с альбуминовым покрытием широко изучаются в качестве объекта, перспективного для использования в тераностике опухолей. Уже разработаны и в исследовательской практике применяются методы визуализации и лечения с их помощью. Однако и в настоящее время дополнительного изучения и усовершенствования требуют методы изготовления наносистем и их воздействия на организм.

В ходе нашего исследования с использованием оригинального свободнорадикального подхода синтезированы наносистемы на основе МНЧ смешанного оксида железа, покрытые иммобилизованным на их поверхности ЧСА, а также впервые проведена одновременная оценка воздействия разработанных наносистем на опухоли и возможности их визуализации. Получен стабильный золь наносистем диаметром 20–50 нм. Устойчивость и целостность покрытия из альбумина на МНЧ подтверждена путём добавления белка крови иммуноглобулина G к наносистемам.

Частицы введены в/а крысам с привитыми опухолями PC-1 (гепатоцеллюлярный рак). Эксперименты позволили наблюдать более чем двукратное замедление роста опухоли, соответствующее увеличению площади некроза на срезе. Доказано отсутствие побочных реакций: болевого синдрома на введение частиц, ишемизации тканей и самоампутации лапки, системной токсичности. Полученные результаты свидетельствуют о хороших перспективах изучаемого подхода к тераностике опухолей. Долговременное воздействие предложенных наносистем как на опухоль, так и на здоровые ткани требует дальнейших исследований.

# ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работы по подбору условий получения покрытия из альбумина на поверхности наночастиц и анализу возможностей применения наносистем *in vivo* выполены при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-75-10150. Разработка подходов по использованию IgG для оценки свойств покрытий из человеческого сывороточного альбумина на магнитных наночастицах проведена при поддержке из средств федерального бюджета Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (темы № 122041300210-2, 122041300207-2). В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и технологии» Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Вклад в работу распределён следующим образом: А.В. Бычкова, Д.С. Хачатрян, В.С. Покровский, М.Н. Якунина — разработка дизайна исследования; А.В. Бычкова, М.В. Лопухова, В.В. Каспаров, М.Н. Якунина — экспериментальная работа; А.В. Бычкова, В.С. Покровский, М.Н. Якунина, М.В. Лопухова, М.Э. Суханова анализ данных; А.В. Бычкова, М.Н. Якунина, В.С. Покровский, М.С. Вересова — редактирование и написание текста.

# ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The work on the design of albumin coating on the surface of nanoparticles and the analysis of the possibilities of using nanosystems in vivo are carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, project No. 22-75-10150, https://rscf.ru/ project/en/22-75-10150/. The development of approaches for the use of IgG to evaluate the properties of human serum albumin coatings on magnetic nanoparticles was carried out with the support from the federal budget of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the State Assignment of the Institute of Biochemical Chemistry of Russian Academy of Sciences (topics No 122041300210-2, 122041300207-2). The equipment from the Core Facility of the Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences "New Materials and Technologies" was used in this work. Competing interests. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article. Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agreeing to be accountable for all aspects of the work. A.V. Bychkova, D.S. Khachatryan, V.S. Pokrovsky, M.N. Yakunina — development of research design; A.V. Bychkova, M.V. Lopukhova, V.V. Kasparov,

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Majid A., Ahmed W., Patil-Sen Y., et al. Synthesis and characterisation of magnetic nanoparticles in medicine // Micro and Nanomanufacturing. 2018. Vol. 2. P. 413–442. doi: 10.1007/978-3-319-67132-1\_14

**2.** Kandasamy G., Maity D. Recent advances in superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for in vitro and in vivo cancer nanotheranostics // Int J Pharm. 2015. Vol. 496, N 2. P. 191–218. doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.058

**3.** Wang X., Liang Y., Fei S., et al. Formulation and pharmacokinetics of HSA–core and PLGA–shell nanoparticles for delivering gemcitabine // AAPS PharmSciTech. 2018. Vol. 19. P. 812–819. doi: 10.1208/s12249-017-0888-9

**4.** Saravanakumar G., Kim J., Kim W.J. Reactive-oxygenspecies-responsive drug delivery systems: promises and challenges // Advanced Science. 2017. Vol. 4, N 1. P. 1600124. doi: 10.1002/advs.201600124

**5.** Szwed M., Marczak A. Application of nanoparticles for magnetic hyperthermia for cancer treatment—the current state of knowledge // Cancers. 2024. Vol. 16, N 6. P. 1156. doi: 10.3390/cancers16061156

**6.** Israel L.L., Galstyan A., Holler E., Ljubimova J.Y. Magnetic iron oxide nanoparticles for imaging, targeting and treatment of primary and metastatic tumors of the brain // J Control Release. 2020. Vol. 320. P. 45–62. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.01.009

**7.** Thangudu S., Huang E.Y., Su C.H. Safe magnetic resonance imaging on biocompatible nanoformulations // Biomater Sci. 2022. Vol. 10, N 18. P. 5032–5053. doi: 10.1039/d2bm00692h

**8.** Chubarov A.S. Serum albumin for magnetic nanoparticles coating // Magnetochemistry. 2022. Vol. 8, N 2. P. 13. doi: 10.3390/magnetochemistry8020013

9. Sleep D. Albumin and its application in drug delivery // Expert Opin Drug Deliv. 2015. Vol. 12, N 5. P. 793–812. doi: 10.1517/17425247.2015.993313
10. Aires A., Ocampo S.M., Cabrera D., et al. BSA–coated magnetic nanoparticles for improved therapeutic properties // J Mater Chem B. 2015. Vol. 3, N 30. P. 6239–6247. doi: 10.1039/c5tb00833f

**11.** Thao L.Q., Byeon H.J., Lee C., et al. Doxorubicin-bound albumin nanoparticles containing a TRAIL protein for targeted treatment of colon cancer // Pharm Res. 2016. Vol. 33. P. 615–626. doi: 10.1007/s11095-015-1814-z

**12.** Yamasaki K., Chuang V.T., Maruyama T., Otagiri M. Albumin–drug interaction and its clinical implication // Biochim Biophys Acta. 2013. Vol. 1830, N 12. P. 5435–5443. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.05.005

**13.** Malinovskaya J., Salami R., Valikhov M., et al. Supermagnetic human serum albumin (HSA) nanoparticles and PLGA-based doxorubicin nanoformulation: A duet for selective nanotherapy // Int J Mol Sci. 2023. Vol. 24, N 1. P. 627. doi: 10.3390/ijms24010627

**14.** Thangudu S., Kaur N., Korupalli C., et al. Recent advances in near infrared light responsive multi-functional nanostructures for phototheranostic applications // Biomaterials Science. 2021. Vol. 9, N 16. P. 5472–5483. doi: 10.1039/D1BM00631B

**15.** Vismara E., Bongio C., Coletti A., et al. Albumin and Hyaluronic Acid-Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Loaded

M.N. Yakunina — experiments; A.V. Bychkova, V.S. Pokrovsky, M.N. Yakunina, M.V. Lopukhova, M.E. Sukhanova — data analysis; A.V. Bychkova, M.N. Yakunina, M.V. Lopukhova, V.S. Pokrovsky, M.S. Veresova — editing and writing of text.

with Paclitaxel for Biomedical Applications // Molecules. 2017. Vol. 22, N 7. P. 1030. doi: 10.3390/molecules22071030

**16.** Tzameret A., Ketter–Katz H., Edelshtain V., et al. In vivo MRI assessment of bioactive magnetic iron oxide/human serum albumin nanoparticle delivery into the posterior segment of the eye in a rat model of retinal degeneration // J Nanobiotechnology. 2019. Vol. 17. P. 1–11. doi: 10.1186/s12951–018–0438–y

**17.** Baki A., Remmo A., Löwa N., et al. Albumin-coated singlecore iron oxide nanoparticles for enhanced molecular magnetic imaging (MRI/MPI) // Int J Mol Sci. 2021. Vol. 22, N 12. P. 6235. doi: 10.3390/ijms22126235

**18.** Tao C., Zheng Q., An L., et al. T1–Weight Magnetic Resonance Imaging Performances of Iron Oxide Nanoparticles Modified with a Natural Protein Macromolecule and an Artificial Macromolecule // Nanomaterials (Basel). 2019. Vol. 9, N 2. P. 170. doi: 10.3390/nano9020170

**19.** Ostroverkhov P., Semkina A., Naumenko V., et al. HSA-Coated magnetic nanoparticles for MRI-guided photodynamic cancer therapy // Pharmaceutics. 2018. Vol. 10, N 4. P. 284. doi: 10.3390/pharmaceutics10040284

**20.** Chen Q., Liu Z. Albumin Carriers for Cancer Theranostics: a Conventional Platform with New Promise // Adv Mater. 2016. Vol. 28, N 47. P. 10557–10566. doi: 10.1002/adma.201600038

**21.** Прусаков В.Е., Максимов Ю.В., Нищев К.Н., и др. Гибридные, биодеградируемые нанокомпозиты на основе биополиэфирной матрицы и магнитных наночастиц оксида железа: структурные, магнитные и электронные характеристики // Химическая физика. 2018. Т. 37, № 1. С. 83–90. EDN: YMWMVP doi: 10.7868/S0207401X18010119

22. Бычкова А.В., Розенфельд М.А., Леонова В.Б., и др. Свободнорадикальное сшивание молекул сывороточного альбумина на поверхности наночастиц магнетита в водной дисперсии // Коллоидный журнал. 2013. Т. 75, № 1. С. 9–13. doi: 10.7868/S0023291213010047

**23.** Bychkova A.V., Lopukhova M.V., Wasserman L.A., et al. Interaction between immunoglobulin G and peroxidase-like iron oxide nanoparticles: Physicochemical and structural features of the protein // Biochim Biophys Acta Proteins Proteom. 2020. Vol. 1868, N 1. P. 140300. doi: 10.1016/j.bbapap.2019.140300

**24.** Bychkova A.V., Lopukhova M.V., Wasserman L.A., et al. The influence of pH and ionic strength on the interactions between human serum albumin and magnetic iron oxide nanoparticles // Int J Biol Macromol. 2022. Vol. 194. P. 654– 665. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.11.110

**25.** Пронкин П.Г., Бычкова А.В., Сорокина О.Н., и др. Исследование белковых покрытий на магнитных наночастицах методом спектрально-флуоресцентных зондов // Химия высоких энергий. 2013. Т. 47, № 5. С. 400–402. EDN: QYNEZH doi: 10.7868/S0023119713050116

**26.** Бычкова А.В., Пронкин П.Г., Сорокина О.Н., и др. Исследование сшитых по свободнорадикальному механизму белковых

покрытий на магнитных наночастицах методом спектральнофлуоресцентных зондов // Коллоидный журнал. 2014. Т. 76, № 4. С. 420–428. doi: 10.7868/S002329121404003Х

**27.** Cukalevski R., Ferreira S.A., Dunning C.J, et al. IgG and fibrinogen driven nanoparticle aggregation // Nano Research. 2015. Vol. 8. P. 2733–2743. doi: 10.1007/s12274-015-0780-4

**28.** Bychkova A.V., Lopukhova M.V., Wasserman L.A., et al. Interaction between immunoglobulin G and peroxidase-like iron oxide nanoparticles: Physicochemical and structural features of the protein // Biochim Biophys Acta ProteinsProteom. 2020. Vol. 1868, N 1. P. 140300. doi: 10.1016/j.bbapap.2019.140300

**29.** Лавникова Г.А. Гистологический метод количественной оценки терапевтического повреждения опухоли: Методические рекомендации. Москва, 1979. 13 с.

**30.** Pacak C.A., Hammer P.E., MacKay A.A., et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles function as a long-term, multi-modal imaging label for non-invasive tracking of implanted progenitor cells // PLoS One. 2014. Vol. 9, N 9. P. e108695. doi: 10.1371/journal.pone.0108695 **31.** Dong H., Yang D., Hu Y., Song X. Recent advances in smart nanoplatforms for tumor non-interventional embolization therapy // J Nanobiotechnology. 2022. Vol. 20, N 1. P. 337. doi: 10.1186/s12951-022-01548-w

**32.** Zhang C., Liu X., Jin S., et al. Ferroptosis in cancer therapy: a novel approach to reversing drug resistance // Mol cancer. 2022. Vol. 21, N 1. P. 47. doi: 10.1186/s12943-022-01530-y

# REFERENCES

1. Majid A, Ahmed W, Patil–Sen Y, et al. Synthesis and Characterisation of Magnetic Nanoparticles in Medicine. *Micro and Nanomanufacturing.* 2018;2:413–442. doi: 10.1007/978–3–319–67132–1\_14

**2.** Kandasamy G, Maity D. Recent advances in superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for in vitro and in vivo cancer nanotheranostics. *Int J Pharm.* 2015;496(2):191–218. doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.058

**3.** Wang X, Liang Y, Fei S, et al. Formulation and pharmacokinetics of HSA–core and PLGA–shell nanoparticles for delivering gemcitabine. *AAPS PharmSciTech.* 2018;19:812–819. doi: 10.1208/s12249–017–0888–9

**4.** Saravanakumar G, Kim J, Kim WJ. Reactive-oxygen-speciesresponsive drug delivery systems: promises and challenges. *Advanced Science*. 2017;4(1):1600124. doi: 10.1002/advs.201600124

**5.** Szwed M, Marczak A. Application of Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia for Cancer Treatment—The Current State of Knowledge. *Cancers*. 2024;16(6):1156. doi: 10.3390/cancers16061156

**6.** Israel LL, Galstyan A, Holler E, Ljubimova JY. Magnetic iron oxide nanoparticles for imaging, targeting and treatment of primary and metastatic tumors of the brain. *J Control Release.* 2020;320:45–62. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.01.009

**7.** Thangudu S, Huang EY, Su CH. Safe magnetic resonance imaging on biocompatible nanoformulations. *Biomater Sci.* 2022;10(18):5032–5053. doi: 10.1039/d2bm00692h

**8.** Chubarov AS. Serum Albumin for Magnetic Nanoparticles Coating. *Magnetochemistry*. 2022;8(2):13. doi: 10.3390/magnetochemistry8020013

**33.** Gao L., Fan K., Yan X. Iron oxide nanozyme: a multifunctional enzyme mimetic for biomedical applications // Theranostics. 2017. Vol. 7, N 13. P. 3207–3227. doi: 10.7150/thno.19738

**34.** Voinov M.A., Sosa Pagan J.O., Morrison E., et al. Surfacemediated production of hydroxyl radicals as a mechanism of iron oxide nanoparticle biotoxicity // Journal Am Chem Soc. 2011. Vol. 133, N 1. P. 35–41. doi: 10.1021/ja104683w

**35.** Kim S.E., Zhang L., Ma K., et al. Ultrasmall nanoparticles induce ferroptosis in nutrient–deprived cancer cells and suppress tumour growth // Nat Nanotechnol. 2016. Vol. 11, N 11. P. 977–985. doi: 10.1038/nnano.2016.164 **36.** Gorobets M.G., Bychkova A.V., Abdullina M.I., Motyakin M.V. Peroxidase-like Activity of Magnetic Nanoparticles in the Presence of Blood Proteins // Dokl Biochem Biophys. 2023. Vol. 512, N 1. P. 270–273. doi: 10.1134/S1607672923700394

**37.** Bychkova A.V., Yakunina M.N., Lopukhova M.V., et al. Albumin-Functionalized Iron Oxide Nanoparticles for Theranostics: Engineering and Long-Term In Situ Imaging // Pharmaceutics. 2022. Vol. 14, N 12. P. 2771. doi: 10.3390/pharmaceutics14122771

**38.** Thangudu S., Kaur N., Korupalli C., et al. Recent advances in near infrared light responsive multi-functional nanostructures for phototheranostic applications // Biomater Sci. 2021. Vol. 9, N 16. P. 5472–5483. doi: 10.1039/d1bm00631b

**39.** Cai L., Du Y., Xiong H., Zheng H. Application of nanotechnology in the treatment of hepatocellular carcinoma // Fron Pharmacol. 2024. Vol. 15. P. 1438819. doi: 10.3389/fphar.2024.1438819

**9.** Sleep D. Albumin and its application in drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2015;12(5):793–812. doi: 10.1517/17425247.2015.993313 **10.** Aires A, Ocampo SM, Cabrera D, et al. BSA–coated magnetic nanoparticles for improved therapeutic properties. *J Mater Chem B.* 2015;3(30):6239–6247. doi: 10.1039/c5tb00833f

**11.** Thao LQ, Byeon HJ, Lee C, et al. Doxorubicin–Bound Albumin Nanoparticles Containing a TRAIL Protein for Targeted Treatment of Colon Cancer. *Pharm Res.* 2016;33:615–626. doi: 10.1007/s11095–015–1814–z

**12.** Yamasaki K, Chuang VT, Maruyama T, Otagiri M. Albumin– drug interaction and its clinical implication. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(12):5435–5443. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.05.005

**13.** Malinovskaya J, Salami R, Valikhov M, et al. Supermagnetic Human Serum Albumin (HSA) Nanoparticles and PLGA-Based Doxorubicin Nanoformulation: A Duet for Selective Nanotherapy. *Inter J Mol Sci.* 2023;24(1):627. doi: 10.3390/ijms24010627

**14.** Thangudu S, Kaur N, Korupalli C, et al. (2021). Recent advances in near infrared light responsive multi-functional nanostructures for phototheranostic applications. *Biomater. Sci*, 2021;9(16):5472–5483. doi: 10.1039/D1BM00631B

**15.** Vismara E, Bongio C, Coletti A, et al. Albumin and Hyaluronic Acid– Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Loaded with Paclitaxel for Biomedical Applications. *Molecules*. 2017;22(7):1030. doi: 10.3390/molecules22071030

**16.** Tzameret A, Ketter–Katz H, Edelshtain V, et al. In vivo MRI assessment of bioactive magnetic iron oxide/human serum albumin nanoparticle delivery into the posterior segment of the eye in a rat

255

model of retinal degeneration. *J Nanobiotechnology.* 2019;17(1):1–11. doi: 10.1186/s12951–018–0438–y

**17.** Baki A, Remmo A, Löwa N, et al. Albumin–Coated Single–Core Iron Oxide Nanoparticles for Enhanced Molecular Magnetic Imaging (MRI/MPI). *Int J Mol Sci.* 2021;22(12):6235. doi: 10.3390/ijms22126235 **18.** Tao C, Zheng Q, An L, et al. T1–Weight Magnetic Resonance Imaging Performances of Iron Oxide Nanoparticles Modified with a Natural Protein Macromolecule and an Artificial Macromolecule.

Nanomaterials. 2019;9(2):170. doi: 10.3390/nano9020170

**19.** Ostroverkhov P, Semkina A, Naumenko V, et al. HSA—Coated Magnetic Nanoparticles for MRI–Guided Photodynamic Cancer Therapy. *Pharmaceutics.* 2018;10(4):284. doi: 10.3390/pharmaceutics10040284

**20.** Chen Q, Liu Z. Albumin Carriers for Cancer Theranostics: A Conventional Platform with New Promise. *Adv Mater.* 2016;28(47):10557–10566. doi: 10.1002/adma.201600038

**21.** Prusakov VE, Maksimov YV, Nishchev KN, et al. Hybrid Biodegradable Nanocomposites Based on a Biopolyester Matrix and Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Structural, Magnetic, and Electronic Characteristics. *Russ J Phys Chem B.* 2018;12:158–164. EDN: YMWMVP doi: 10.1134/S1990793118010116

**22.** Bychkova AV, Rosenfeld MA, Leonova VB, et al. Free–radical cross–linking of serum albumin molecules on the surface of magnetite nanoparticles in aqueous dispersion. *Colloid J.* 2013;75:7–13. doi: 10.1134/S1061933X13010031

**23.** Bychkova AV, Lopukhova MV, Wasserman LA, et al. Interaction between immunoglobulin G and peroxidase–like iron oxide nanoparticles: Physicochemical and structural features of the protein. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.* 2020;1868(1):140300. doi: 10.1016/j.bbapap.2019.140300

**24.** Bychkova AV, Lopukhova MV, Wasserman LA, et al. The influence of pH and ionic strength on the interactions between human serum albumin and magnetic iron oxide nanoparticles. *Int J Biol Macromol.* 2022;194:654–665. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.11.110

**25.** Pronkin PG, Bychkova AV, Sorokina ON, et al. Study of protein coatings on magnetic nanoparticles by the method of spectral and fluorescent probes. *High Energy Chem.* 2013; 47(5):268–269. EDN: QYNEZH doi: 10.1134/S0018143913050111

**26.** Bychkova AV, Pronkin PG, Sorokina ON, et al. Study of protein coatings cross—linked via the free—radical mechanism on magnetic nanoparticles by the method of spectral and fluorescent probes. *Colloid J.* 2014;76(4):387–394. doi: 10.1134/S1061933X14040036

**27.** Cukalevski R, Ferreira SA, Dunning CJ, et al. IgG and fibrinogen driven nanoparticle aggregation. *Nano Res.* 2015;8: 2733–2743. doi: 10.1007/s12274–015–0780–4

**28.** Bychkova AV, Lopukhova MV, Wasserman LA, et al. Interaction between immunoglobulin G and peroxidase–like iron oxide nanoparticles: Physicochemical and structural features of the protein. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.* 2020;1868(1):140300. EDN: IYAFOL doi: 10.1016/j.bbapap.2019.140300

**29.** Lavnikova GA. Histological Quantification Method Therapeutic Tumor Lesions: Methodical recommendations. Moscow: 1979. 13 p. (In Russ.)

**30.** Pacak CA, Hammer PE, MacKay AA, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles function as a long-term, multi-modal imaging label for non-invasive tracking of implanted progenitor cells. *PLoS One.* 2014;9(9):e108695. doi: 10.1371/journal.pone.0108695

**31.** Dong H, Yang D, Hu Y, Song X. Recent advances in smart nanoplatforms for tumor non-interventional embolization therapy. *J Nanobiotechnology*. 2022;20(1):337. doi: 10.1186/s12951-022-01548-w

**32.** Zhang C, Liu X, Jin S, et al. Ferroptosis in cancer therapy: a novel approach to reversing drug resistance. *Mol Cancer.* 2022;21(1):47. doi: 10.1186/s12943-022-01530-y

**33.** Gao L, Fan K, Yan X. Iron Oxide Nanozyme: A Multifunctional Enzyme Mimetic for Biomedical Applications. *Theranostics*. 2017;7(13):3207–3227. doi: 10.7150/thno.19738

**34.** Voinov MA, Sosa Pagan JO, Morrison E, et al. Surfacemediated production of hydroxyl radicals as a mechanism of iron oxide nanoparticle biotoxicity. *J Am Chem Soc.* 2011;133(1):35–41. doi: 10.1021/ja104683w

**35.** Kim SE, Zhang L, Ma K, et al. Ultrasmall nanoparticles induce ferroptosis in nutrient–deprived cancer cells and suppress tumour growth. *Nat Nanotechnol.* 2016;11(11):977–985. doi: 10.1038/nnano.2016.164

**36.** Gorobets MG, Bychkova AV, Abdullina MI, Motyakin MV. Peroxidase–Like Activity of Magnetic Nanoparticles in the Presence of Blood Proteins. *Dokl Biochem Biophys* 2023;512(1):270–273. doi: 10.1134/S1607672923700394

**37.** Bychkova AV, Yakunina MN, Lopukhova MV, et al. Albumin– Functionalized Iron Oxide Nanoparticles for Theranostics: Engineering and Long–Term In Situ Imaging. *Pharmaceutics*. 2022;14(12):2771. doi: 10.3390/pharmaceutics14122771

**38.** Thangudu S, Kaur N, Korupalli C, Zheng H. Recent advances in near infrared light responsive multi–functional nanostructures for phototheranostic applications. *Biomater Sci.* 2021;9(16):5472–5483. doi: 10.1039/d1bm00631b

**39.** Cai L, Du Y, Xiong H, et al. Application of nanotechnology in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Front. Pharmacol.* 2024;15(1):1438819. doi: 10.3389/fphar.2024.1438819

# ОБ АВТОРАХ

\* Бычкова Анна Владимировна, канд. хим. наук; адрес: Россия, 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4; ORCID: 0000-0001-6367-0923; eLibrary SPIN: 2180-2705; e-mail: anna.v.bychkova@gmail.com

**Якунина Марина Николаевна,** д-р ветеринар. наук; ORCID: 0000-0002-5278-1641; e-mail: irsovet@yandex.ru

Лопухова Мария Владимировна; ORCID: 0009-0002-4701-0815; eLibrary SPIN: 9921-9170; e-mail: mahlop1@yandex.ru

Покровский Вадим Сергеевич, д-р мед. наук; ORCID: 0000-0003-4006-9320; eLibrary SPIN: 4552-1226; e-mail: pokrovskiy-vs@rudn.ru

**Вересова Мария Сергеевна;** ORCID: 0009-0004-4069-6011; e-mail: veresovamariiaa@gmail.com

Суханова Марина Эльмировна, канд. биол. наук; e-mail: sukhanova-me@rudn.ru

Каспаров Валерий Владимирович, канд. хим. наук.; ORCID: 0000-0002-0438-2451;

eLibrary SPIN: 5283-7920; e-mail: vvkas@yandex.ru

**Хачатрян Дереник Саркисович,** канд. хим. наук; ORCID: 0000-0002-5490-5652; eLibrary SPIN: 3221-3444; e-mail: derenik-s@yandex.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

# **AUTHORS INFO**

\* Anna V. Bychkova, Cand. Sci. (Chemistry); address: 4 Kosygin street, 119334 Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-6367-0923; eLibrary SPIN: 2180-2705; e-mail: anna.v.bychkova@gmail.com

Marina N. Yakunina, Dr. Sci. (Veterinary); ORCID: 0000-0002-5278-1641; e-mail: irsovet@yandex.ru

Mariia V. Lopukhova; ORCID: 0009-0002-4701-0815; eLibrary SPIN: 9921-9170; e-mail: mahlop1@yandex.ru

Vadim S. Pokrovsky, MD, Dr. Sci. (Med.); ORCID: 0000-0003-4006-9320; eLibrary SPIN: 4552-1226; e-mail: pokrovskiy-vs@rudn.ru

Mariia S. Veresova; ORCID: 0009-0004-4069-6011; e-mail: veresovamariiaa@gmail.com

Marina E. Sukhanova, Cand. Sci. (Biology); e-mail: sukhanova-me@rudn.ru

**Valery V. Kasparov,** Cand. Sci. (Chemistry); ORCID: 0000-0002-0438-2451; eLibrary SPIN: 5283-7920; e-mail: vvkas@yandex.ru

Derenik S. Khachatryan, Cand. Sci. (Chemistry); ORCID: 0000-0002-5490-5652; eLibrary SPIN: 3221-3444; e-mail: derenik-s@yandex.ru