

# ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ ПРОЦЕССЫ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА ДЛЯ УСИЛЕНИЯ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ

Д.В. Поминова<sup>1,2</sup>, И.Д. Романишкин<sup>1</sup>, Е.А. Плотникова<sup>3</sup>, Н.Б. Морозова<sup>3</sup>, В.Б. Лощенов<sup>1,2</sup>,  
R. Wittig<sup>4</sup>, M. Linden<sup>5</sup>, R.W. Steiner<sup>2</sup>, A.B. Рябова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

<sup>3</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

<sup>4</sup>Институт лазерных технологий в медицине и метрологии, Ульм, Германия

<sup>5</sup>Институт неорганической химии II Университета г. Ульм, Ульм, Германия

## Резюме

Наночастицы используются в качестве носителей лекарственных средств для повышения селективности и эффективности терапии, а также для комбинированной терапии, объединяющей разные виды воздействия. Перспективными в этом аспекте являются наночастицы оксида железа. Благодаря магнитным свойствам, они могут быть применены в качестве контраста для магнитно-резонансной томографии. Также наночастицы оксида железа могут быть покрыты фотосенсибилизатором для фотодинамической терапии, а их лазерный или магнитный нагрев этих частиц может использоваться для проведения фототерапии. При этом локальное усиление электромагнитного поля вблизи наночастиц оксида железа может повысить интенсивность флуоресценции фотосенсибилизаторов и эффективность генерации синглетного кислорода.

В работе представлены результаты исследования наночастиц оксида железа, сфокусированного на фотофизических аспектах образования «горячих точек» при лазерном облучении. Фотоиндуцированные эффекты наночастиц оксида железа, наблюдаемые в экспериментах *in vitro*, приводят к разрыву лизосом. Теоретическое моделирование показало, что нагрев наночастиц оксида железа радиусом 35 нм под действием лазерного излучения составляет порядка 89°C и 19°C для длин волн 458 и 561 нм, соответственно. Локальное усиление поля возникает в парах из наночастиц различного размера и сильно зависит от расстояния между ними. Максимальное усиление достигается при малых расстояниях между наночастицами. Для димера наночастиц с радиусами 10 нм и 35 нм на расстоянии 1 нм получен фактор усиления на два порядка. Рассмотренное явление «горячих точек» востребовано для прецизионной терапии, так как фотоиндуцированные процессы возникают на малых расстояниях между наночастицами, в областях с их высоким накоплением.

**Ключевые слова:** наночастицы оксида железа, плазмон-поляритоны, «горячие точки», моделирование, лазерная гипертермия, усиление электромагнитного поля.

**Для цитирования:** Поминова Д.В., Романишкин И.Д., Плотникова Е.А., Морозова Н.Б., Лощенов В.Б., Wittig R., Linden M., Steiner R.W., Рябова А.В. Фотоиндуцированные процессы наночастиц оксида железа для усиления лазерной терапии // Biomedical Photonics. – 2021. – Т. 10, № 4. – С. 44–58. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-4-44-58

**Контакты:** Рябова А.В., e-mail: nastya.ryabova@gmail.com

## PHOTO-INDUCED PROCESSES OF IRON OXIDE NANOPARTICLES TO ENHANCE LASER THERAPY

Pominova D.V.<sup>1,2</sup>, Romanishkin I.D.<sup>1</sup>, Plotnikova E.A.<sup>3</sup>, Morozova N.B.<sup>3</sup>, Loschenov V.B.<sup>1,2</sup>,  
Wittig R.<sup>4</sup>, Linden M.<sup>5</sup>, Steiner R.W.<sup>2</sup>, Ryabova A.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>2</sup>National Research Nuclear University «MEPhI», Moscow, Russia

<sup>3</sup>P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of FSBI NMRRС of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

<sup>4</sup>Institute for Laser Technologies in Medicine & Metrology, Ulm, Germany

<sup>5</sup>Institute for Inorganic Chemistry II at Ulm University, Ulm, Germany

## Abstract

Nanoparticles are used as drug carriers to increase the selectivity and effectiveness of therapy, as well as for combined therapy that utilizes different effects. Iron oxide nanoparticles are promising in this aspect. Due to magnetic properties, they can be used as a contrast agent for magnetic resonance imaging. Also, iron oxide nanoparticles could be coated with a photosensitizer for photodynamic therapy and their laser or magnetic heating can be used for phototherapy. Local enhancement of the electromagnetic field near iron oxide nanoparticles can increase the fluorescence intensity of photosensitizers and the efficiency of singlet oxygen generation.

This paper presents the results of a study of iron oxide nanoparticles focused on the photophysical aspects of the formation of "hot spots" under laser irradiation. The photoinduced effects of iron oxide nanoparticles observed in *in vitro* experiments lead to the rupture of lysosomes. Theoretical modeling showed that the heating of iron oxide nanoparticles with a radius of 35 nm under the action of laser radiation is about 89°C and 19°C for wavelengths of 458 and 561 nm, respectively. Local field enhancement occurs in pairs of nanoparticles of various sizes and strongly depends on the distance between them. The maximum gain is achieved at small distances between nanoparticles. For a dimer of nanoparticles with radii of 10 and 35 nm at a distance of 1 nm, an enhancement factor of two orders of magnitude was obtained. The investigated phenomenon of «hot spots» is in demand for precision therapy, because the photo-induced processes occur at small distances between nanoparticles, in areas of their high accumulation.

**Keywords:** Iron oxide nanoparticles, plasmon polaritons, «hot spots», modeling, laser hyperthermia, electromagnetic field amplification.

**For citations:** Pominova D.V., Romanishkin I.D., Plotnikova E.A., Morozova N.B., Loschenov V.B., Wittig R., Linden M., Steiner R.W., Ryabova A.V. Photo-induced processes of iron oxide nanoparticles to enhance laser therapy, *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 44–58 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2021–10-4-44-58

**Contacts:** Ryabova A.V., e-mail: nastya.ryabova@gmail.com

## Введение

Наночастицы (НЧ) привлекают к себе большое внимание благодаря большому прогрессу в их синтезе и функционализации поверхности, наряду со способностью фототермической конверсии [1] и флуоресценции в ближней инфракрасной области [2]. Фототермическое преобразование производит нагрев и приводит к образованию активных форм кислорода, которые разрушают опухолевые клетки [3]. НЧ могут стать идеальным носителем лекарств при их модификации для векторной доставки и контролируемого высвобождения [4].

Гипертермия – привлекательный физический подход для терапии онкологических пациентов [5–8]. Когда температура в тканях повышается, обычно между 40 °C и 45 °C, кровоток и окисление тканей усиливаются [9], коллагеновые волокна ослабевают [10], и опухоли становятся более чувствительными к химиотерапевтическим препаратам [12, 12] или радиации [13–14]. В настоящее время существуют различные клинические подходы, в которых используются зонды и иглы для генерации тепла с помощью микроволн, радиочастот или ультразвука [15, 16], однако они не позволяют осуществлять локальный нагрев целевых патологических областей.

Оксид железа обладает особыми физическими свойствами, особенно в нанометровом диапазоне, благодаря чему НЧ оксида железа (далее IONPs) могут использоваться для МРТ/оптической мультимодальной визуализации, а также в качестве терапевтического агента при лечении опухолей [17]. IONPs показывают многообещающий доклинический результат

в терапии онкологических больных путем модуляции макрофагов, ассоциированных с опухолью [18]. Недавно были опубликованы данные о собственном терапевтическом эффекте ферумокситола – подавлении опухолевых клеток и активизации иммунного ответа на опухоль [19]. IONPs обладают низкой цитотоксичностью [20], а покрытие их диоксидом кремния еще более снижает как гисто-, так и цитотоксичность [21, 22].

Для локализации процесса лазерной гипертермии всё чаще применяют термосенсибилизаторы: магнитные или плазмонно-резонансные НЧ [23]. Сверхмалые (размером порядка 30 нм) суперпарамагнитные IONPs (SPIO) в качестве фототермического агента могут эффективно ингибировать прогрессирование опухоли [24]. Механизм рассеивания тепла SPIO тесно связан с диполь-дипольными взаимодействиями в переменном магнитном поле. Для смеси коллоидов IONPs разного размера продемонстрирована возможность создавать одновременно несколько типов «горячих точек», варьируя параметры магнитного поля [25]. Так, локальное повышение температуры, измеряемое флуоресцентными белками на поверхности IONPs, достигало 85 °C. Суперпарамагнитные частицы рассеивают тепло за счет релаксации Нееля и Брауна [26, 27]. В магнитной гипертермии внутриклеточная агрегация IONPs внутри эндосом признана важной проблемой, потому что при этом подавляются оба физических механизма: броуновскую релаксацию НЧ (вращение целых магнитных НЧ в их окружении) и релаксацию Нееля, или вращение магнитного момента внутри магнитопроводов [28]. Недостатком использования магнитной гипертермии для клиниче-

ского применения является необходимость высоких концентраций IONPs,  $[Fe] = 1\text{--}2\text{ М}$ , на несколько порядков выше, чем концентрации, используемые для MPT [29]. Ведутся исследования по оптимизации эффективности нагрева IONPs [30, 31].

Совсем недавно IONPs были протестированы для фототермической терапии *in vitro* и *in vivo*. Использование нанокубиков оксида железа в качестве сенсоров одновременно как магнитной, так и лазерной гипертермии показало высокую эффективность гипертермии на экспериментальных моделях у мышей [32]. Эффект лазерной гипертермии был также продемонстрирован на магнитных IONPs, покрытых ИК-красителями Cyanine 7 [33], IR-780 [34]. Замечено, что внутриклеточная агрегация IONPs приводит к некоторому увеличению фототермического нагрева НЧ [35]. Появляются работы по успешному использованию IONPs в комбинации с фотосенсибилизаторами для фотодинамической терапии [36, 37].

При взаимодействии лазерного излучения с НЧ происходит поглощение света и рассеяние тепла. Исследование этих процессов формирует активно развивающуюся на сегодняшний день область так называемой термоплазмоники [38]. Охарактеризовать взаимодействие падающей волны с НЧ можно при помощи сечения рассеяния и поглощения НЧ. Сечение рассеяния характеризует ту часть излучения, которая после взаимодействия с НЧ рассеивается в различных направлениях. Сечение поглощения описывает поглощенную наночастицей энергию. Однако сечения поглощения и рассеяния никак не характеризуют процессы, происходящие в НЧ в области плазмонного резонанса [39]. Было показано, что в области плазмонного резонанса линии потока энергии образуют вихревые структуры вокруг наночастицы, что объясняет увеличение сечения поглощения НЧ по сравнению с геометрическим сечением: за счет образования вихревых структур линии потока энергии несколько раз проходят через частицу, что усиливает взаимодействие между светом и веществом.

Нагрев, который происходит при взаимодействии света с наноматериалами, может иметь различные физические механизмы, которые зависят от природы наноматериала. Поглощение фотонов обычно приводит к тому, что фотоносители переходят в возбужденные состояния, определяемые квантовой механикой, а возвращение в их основное состояние регулируется радиационными (то есть испусканием фотонов) или безызлучательными процессами. Последние связаны с фотонными, зарядовыми или спиновыми возбуждениями, или процессами туннелирования фотоносителей между дефектными/примесными электронными состояниями, когда энергия перехода очень мала. В наномасштабе безызлучательные процессы приводят к высокоэффективным процессам фототерми-

ческого преобразования, при которых поглощенная оптическая энергия рассеивается в тепло.

В полупроводниковых материалах, таких как оксиды железа, энергия оптического излучения допускает временный переход электронов из валентной зоны в зону проводимости, что приводит к выделению тепла, когда электроны релаксируют обратно в валентную зону [40]. Фототермическое преобразование неметаллических неорганических НЧ демонстрирует умеренную эффективность и более широкое оптическое поглощение, чем у металлических аналогов. Интересно, что диффузное и прямое оптическое пропускание и компоненты отражения играют важную роль в судьбе поглощения/рассеяния фотонов коллоидами, особенно когда IONPs агрегируют [41].

У плазмонно-резонансных НЧ локализованный поверхностный экситон создает высокоинтенсивное локализованное электромагнитное (ЭМ) поле вблизи поверхности, которое оказывает существенное влияние на вероятность оптических процессов, таких как поглощательные и излучательные переходы (эффект Парселла) [42]. Увеличение напряженности электрического поля между двумя золотыми НЧ разного размера на два - три порядка достаточно хорошо описано в литературе. Однако подобные явления для диэлектрических НЧ, какими являются НЧ оксида железа, слабо изучены. Предсказаны большие резонансные увеличения поля в зазоре (от 1 до 30 нм) между двумя диэлектрическими кремниевыми микродисками [43].

Согласно нашим экспериментальным данным, при исследовании накопления наночастиц оксида железа в клетках при помощи лазерной сканирующей микроскопии, на изображениях наблюдались яркие вспышки или так называемые «горячие точки». Как было показано в экспериментах *in vitro*, возникновение «горячих точек» между IONPs при лазерном облучении приводит к гибели клеток. Предположительно возникновение «горячих точек» и усиление терапевтического эффекта может быть связано с усилением электромагнитного поля между несколькими IONPs по аналогии с металлическими НЧ [44] или их нагревом. В данной работе проведено теоретическое моделирование усиления электромагнитного поля для отдельных IONPs и их димеров.

## Материалы и методы

Использовали коммерчески доступные НЧ оксида железа  $Fe_2O_3$  (IONPs), полученные методом газовой фазной конденсации (NanoArc® компании AlfaAesar®, США), размер частиц 20–70 нм, площадь поверхности 30–60 м<sup>2</sup>/г,  $\gamma$ -фаза.

*Определение размеров и спектральных характеристик IONPs*

Анализ размера и морфологии IONPs проводили методом просвечивающей электронной

микроскопии с использованием микроскопа LEO 912 AB Omega (Carl Zeiss Group, Германия). Гидродинамические размеры НЧ и  $\zeta$ -потенциал определяли с использованием Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) в  $\text{dH}_2\text{O}$  при 25 °C. Все измерения были выполнены с трехкратным повторением. Поглощение коллоидов IONPs в спектральной области 0,4–0,8 мкм исследовали с помощью спектрофотометра Hitachi U-3400 (Hitachi Ltd., Япония). Поглощение измеряли в кюветах с длиной оптического пути 1 см, массовая концентрация IONPs составляла 0,02 мг/мл.

#### Детектирование «горячих точек»

Для детектирования «горячих точек» при лазерном облучении использовали лазерный сканирующий конфокальный микроскоп LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Для измерений образцы помещали между двумя покровными стеклами с фиксированным расстоянием, определяемым толщиной силиконовой прокладки между ними. Сканирование проводили лазерами с длинами волн 488 и 561 нм. Мощность лазера на выходе из объектива определяли с помощью измерителя мощности лазера LabMax-TO (Coherent, США).

Распределение интенсивности сканирующего лазерного пятна вычислено из соображений размера площади, ограниченной кольцом дифракции первого порядка для функции распределения точки PSF<sub>III</sub> (или Эйри диск), с радиусом  $r$ :

$$r = \frac{0.61\lambda_{\text{exc}}}{NA}, (1)$$

где  $NA$  – числовая апертура объектива микроскопа,  $\lambda_{\text{exc}}$  – длина волны возбуждающего света.

Для лазера 458 нм, объектива 63xoil с  $NA=1,4$ ,  $r = 200$  нм, площадь пятна  $S = 0,13$  мкм<sup>2</sup>, измеренная плотность мощности на выходе из объектива = 1 мВт, плотность мощности при сканировании  $\rho = 0,839 \cdot P/S = 0.668$  МВт/см<sup>2</sup>, при скорости сканирования – 0,53 мкс/пиксель (для температурных измерений) и 1,62 мкс/пиксель (для клеток) доза облучения при однократном сканировании  $A = \rho \cdot t$  составляла 0,35 Дж/см<sup>2</sup> (для температурных измерений) и 1,08 Дж/см<sup>2</sup> (для клеток).

Для лазера 561 нм, объектива 63xoil с  $NA=1,4$ ,  $r = 244$  нм, площадь пятна  $S = 0,19$  мкм<sup>2</sup>, измеренная плотность мощности на выходе из объектива = 1 мВт, плотность мощности при сканировании  $\rho = 0,445$  МВт/см<sup>2</sup>, при скорости сканирования – 0,53 мкс/пиксель (для температурных измерений) и 1,62 мкс/пиксель (для клеток) доза облучения при однократном сканировании составляла 0,24 Дж/см<sup>2</sup> (для температурных измерений) и 0,72 Дж/см<sup>2</sup> (для клеток).

Была изучена зависимость количества вспышек от концентрации IONPs и от температуры среды. Для этого было приготовлено два коллоида с концентрацией IONPs 0.1 и 0.01 мг/л. Для изучения влияния нагрева на количество вспышек проводили нагрев исследуемых образцов на термостойке микроскопа (PeCon GmbH, Erbach, Германия) в диапазоне температур от 20 до 60 °C.

Также при помощи лазерного сканирующего микроскопа были проведены исследования спектров «горячих точек». Спектры свечения «горячих точек» регистрировали 32-канальным GaAsP-детектором в спектральном диапазоне 400–750 нм. Каждую «горячую точку» визуализировали микроскопом как группу из нескольких пикселей с различной яркостью. В начальный момент времени, которому соответствует первый пиксель, яркость низкая. Затем наблюдается увеличение интенсивности сигнала до максимальной яркости, после чего яркость снова уменьшается. Для получения результирующего спектра проводили усреднение для нескольких «горячих точек» по пикселям с одинаковым шагом после возникновения, то есть с примерно одинаковой яркостью.

#### Регистрация «горячих точек» в клетках *in vitro*

Внутриклеточное распределение IONPs и индуцируемые при лазерном сканировании «горячие точки» изучали на культуре клеток HeLa. Клетки HeLa культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки, при 37 °C в атмосфере с содержанием  $\text{CO}_2$  5%. Клетки субкультивировали каждый третий день. Для конфокальной микроскопии клетки засеивали в чашку Петри со стеклянным дном POC-R2 (PeCon GmbH, Erbach, Германия) при плотности  $100 \times 10^3/\text{см}^2$  за сутки до эксперимента. Через сутки к клеткам добавляли IONPs за 4 ч до начала микроскопического исследования. Перед микроскопическим исследованием клетки дважды промывали предварительно нагретым фосфатно-солевым буфером.

#### Теоретическое моделирование спектроскопических свойств IONPs

Было проведено моделирование сечения рассеяния и поглощения отдельных IONPs в воде, а также локального усиления поля вблизи отдельных IONPs и между двумя наночастицами различного размера, образующими димер. В качестве окружающей диэлектрической среды в модели использовали воду.

Моделирование оптических свойств отдельных сферических IONPs с радиусом 10 нм и 35 нм в ближнем и дальнем поле проводилось с использованием метода Т-матриц [45, 46]. Рассеяние вычисляли для оптического диапазона длин волн 400–800 нм. Комплексный показатель преломления оксида железа



был взят с ресурса <https://refractiveindex.info/>, где представлены данные из работ [47,48].

Усиление поля вблизи поверхности наночастицы можно описать формулой:

$$u = \gamma_E u(v_{if}), \quad (2)$$

где  $u$  и  $u(v_{if})$  – энергия внешнего поля в единичном спектральном интервале в присутствии и без наночастицы,  $\gamma_E$  – фактор усиления поля, равный отношению поля, создаваемого частицей, к изначальному:

$$\gamma_E = \left| \frac{E}{E_0} \right|^2, \quad (3)$$

где  $E$  – поле, создаваемое частицей,  $E_0$  – изначальное поле.

Расчет позволил получить зависимости сечения поглощения и рассеяния, а также рассчитать фактор усиления поля в зависимости от длины волны падающего излучения в окружении моделируемых НЧ. Рассеяние на димерах, состоящих из двух НЧ радиусом 10 нм и 30 нм, расположенных на расстоянии 1 нм, 5 нм, 10 нм и 50 нм друг от друга, рассчитывали при помощи метода конечных разностей во временной области (FDTD) [49, 50]. Метод конечных разностей использовался для численного решения дифференциальных уравнений в частных производных для трехмерных объектов. При расчете предполагали, что димер освещается плоской волной, распространяющейся по оси  $z$ , поляризованной вдоль оси  $x$ . При расчете учитывали геометрические параметры НЧ и диэлектрические проницаемости среды и НЧ. Расчет пространственного распределения поля и локального усиления поля между частицами проводили для длин волн 458 нм и 561 нм, которые использовали в эксперименте.

*Моделирование нагрева НЧ под действием лазерного излучения*

Расчет нагрева производили по формуле, выведенной в работе [50]:

$$\Delta T_{NP} = \frac{\sigma_{abs} I}{4\pi R \kappa_{water}} = \frac{P}{4\pi R \kappa_{water}}, \quad (4)$$

где  $\sigma_{abs}$  – сечение поглощения наночастицы,  $I$  – интенсивность падающего лазерного излучения (Вт/м<sup>2</sup>),  $P$  – поглощенная мощность (Вт),  $R$  – радиус наночастицы,  $\kappa_{water}$  – теплопроводность воды, 0,56 Вт/(м·К). Для расчета нагрева использовали сечения поглощения и рассеяния, рассчитанные при помощи метода Т-матриц для соответствующих длин волн.

Формула (4) позволяет рассчитывать нагрев НЧ, расположенных в воде, при облучении их непрерывным лазерным излучением. Источником тепла явля-

ется оптическое поглощение, которое локально пропорционально напряженности электрического поля и мнимой части диэлектрической проницаемости. Считается, что вода не поглощает падающее лазерное излучение. Таким образом, лазерное излучение поглощается только IONPs и создает источник нагрева, полностью расположенный внутри наночастицы. В связи с большой разницей теплопроводности воды и Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,56 и 7 Вт/(м·К) для воды и для оксида железа Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> соответственно) можно считать, что тепло распределяется внутри частицы настолько быстро по сравнению с внешней средой, что ее температура почти одинакова для частиц среднего размера, а тепловая энергия накапливается на границе частицы, прежде чем диффундирует в воду. Следует отметить, что данный подход был предложен авторами [51] для НЧ золота в воде, разница теплопроводности золота и воды существенно выше (318 Вт/(м·К) для золота). Помимо соотношения теплопроводностей следует учитывать также время необходимое для достижения установившегося режима  $\tau$ , которое может быть рассчитано по формуле:

$$\tau \sim R^2 \frac{\rho c_p}{\kappa} = \frac{R^2}{9D}, \quad (5)$$

где  $R$  – радиус наночастицы,  $D$  – температуропроводность (м<sup>2</sup>/с). Для воды температуропроводность составляет  $1,43 \times 10^{-8}$  м<sup>2</sup>/с.

Авторы рассматривали НЧ золота размером 100 нм. Самый большой размер НЧ, рассматриваемых в данной работе, составляет 70 нм. В силу квадратичной зависимости  $\tau$  от радиуса НЧ, время достижения установившегося режима для наших НЧ существенно короче.

Поскольку распределение температуры отвечает уравнению Пуассона, которое является масштабно-инвариантным, оно зависит от размера частиц только косвенно, через поглощенную мощность  $P$ . Для небольшой сферы распределение  $P(r)$  однородно, и рост температуры внутри НЧ может быть описан уравнением:

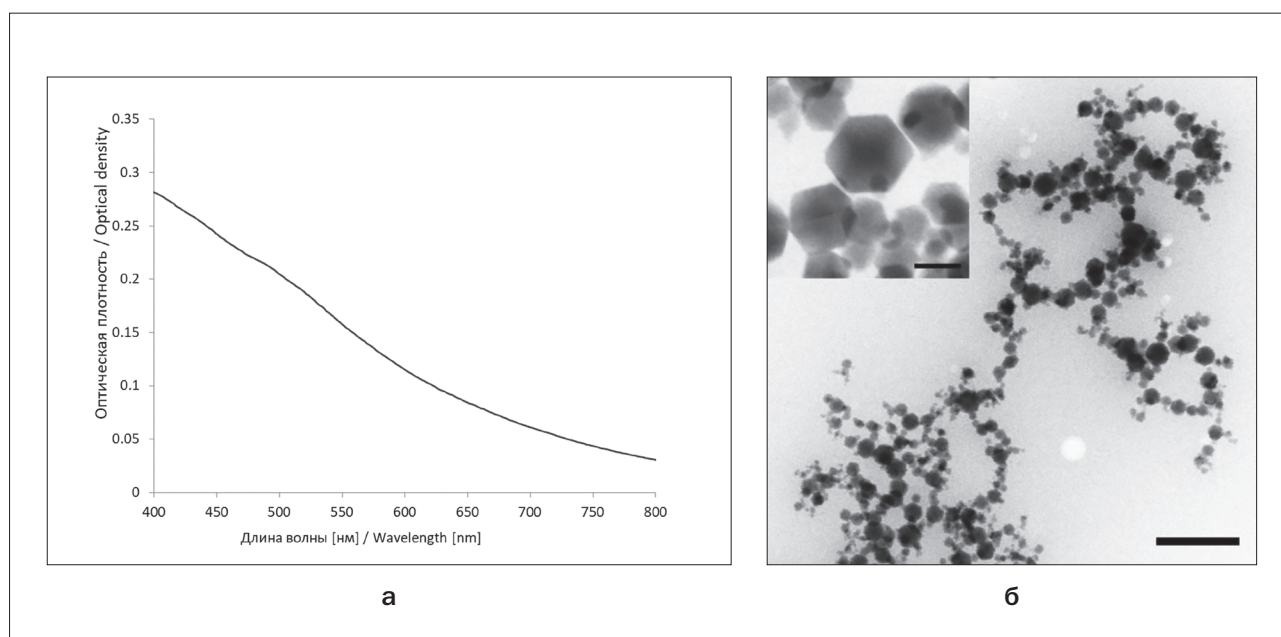
$$\Delta T(r) = \frac{p(R^2 - r^2)}{6\kappa_{NP}} + \Delta T_{NP}, \quad (6)$$

где  $\Delta T_{NP}$  – температура, рассчитанная по формуле 4.

Температура максимальна в центре частицы и стремится к  $T_{NP}$  на поверхности частицы. Тепловая неоднородность может быть рассчитана по формуле:

$$\frac{\Delta T_{max}}{\Delta T_{min}} = 1 + \frac{\kappa_{water}}{2\kappa_{NP}}, \quad (7)$$

Для НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> отношение  $\Delta T_{max}/\Delta T_{min}$  составляет 1,04. Можно сказать, что тепло внутри НЧ распространяет-



**Рис. 1.** а – спектры поглощения водного коллоида IONPs; б – ПЭМ IONPs, шкала 200 нм, на вставке – 30 нм.  
**Fig. 1.** а – absorption spectra of IONPs water colloid; б – TEM of IONPs, scale 200 nm, scale on the inset – 30 nm.

ся достаточно быстро по сравнению с внешней средой и температура почти одинакова внутри частиц рассматриваемых размеров. Таким образом, подход, предложенный для золотых НЧ, применим для IONPs, рассматриваемых в данной работе.

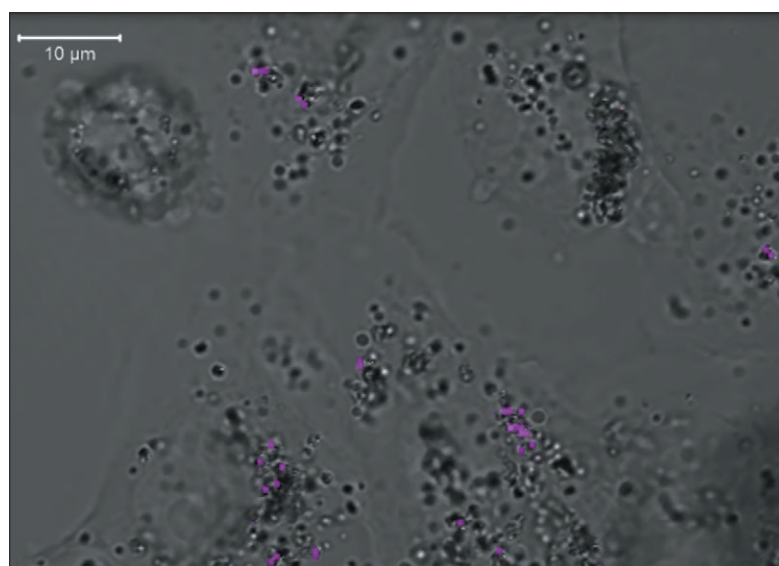
## Результаты

Результаты просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) показывают, что IONPs имеют гексагональную форму и диаметр от 20 нм до 70 нм (рис. 1). Гидродинамический размер частиц в коллоиде составляет  $130 \pm 65$  нм, что свидетельству-

ет о некоторой агрегации,  $\zeta$ -потенциал, измеренный в дистиллированной воде ( $\text{pH} = 7.0$ ) составил  $35 \pm 4$  мВ.

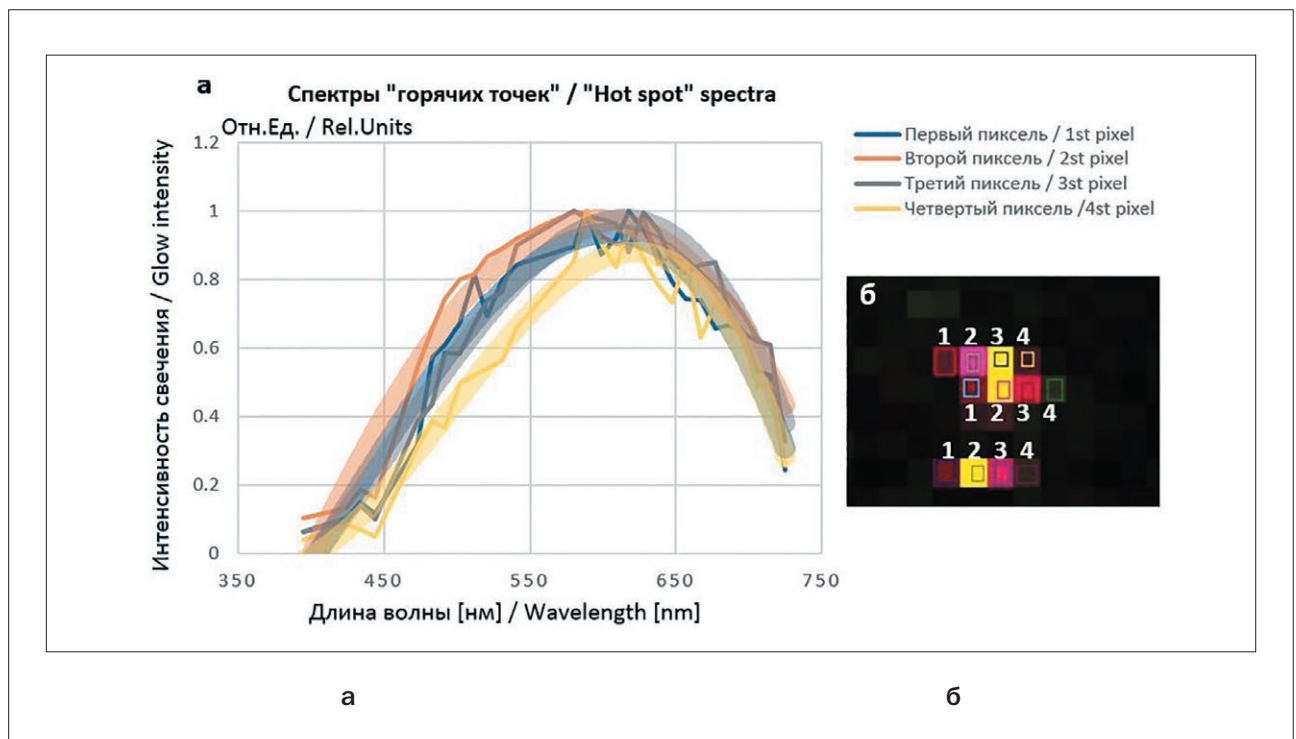
Внутриклеточное распределение IONPs в культуре клеток HeLa, полученное при помощи лазерной сканирующей микроскопии, приведено на рис. 2.

В клетках IONPs и, соответственно, «горячие точки» локализируются внутри эндо-лизосом, что подтверждается быстрым обесцвечиванием лизосомного красителя LysoTracker™ Green DND-26 (Invitrogen, США), – данные не приведены. Схожая внутриклеточная локализация IONPs наблюдается во многих работах,



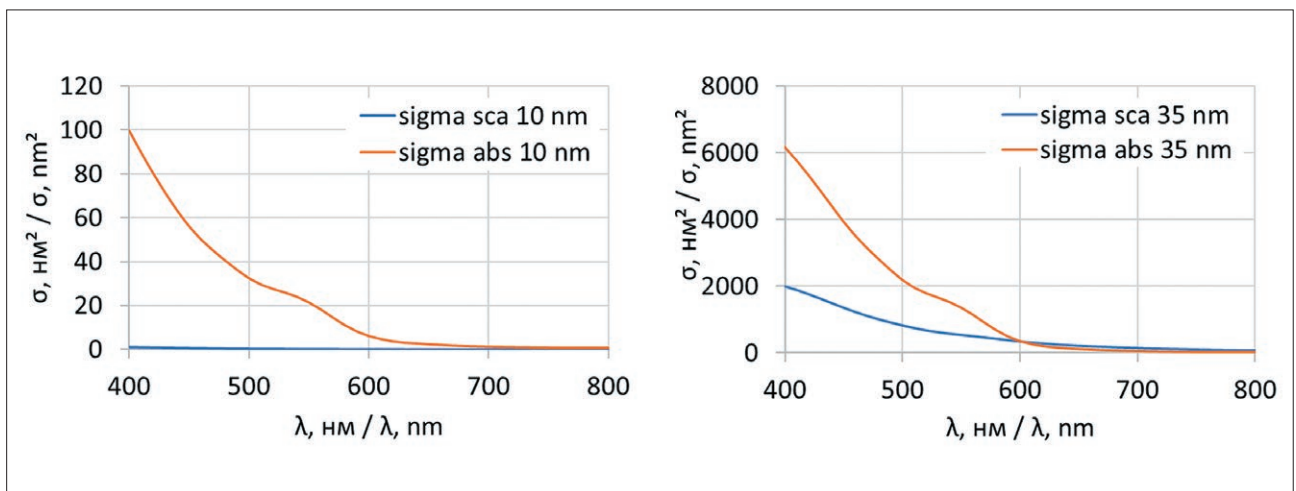
**Рис. 2.** Микроскопические изображения культуры клеток HeLa, полученные при лазерном сканировании с длиной волны 561 нм. Фиолетовым цветом показаны индуцируемые при лазерном сканировании «горячие точки».

**Fig. 2.** Microscopic images of a HeLa cell culture obtained by laser scanning at a wavelength of 561 nm. The «hot spots» induced by laser scanning are shown in purple.



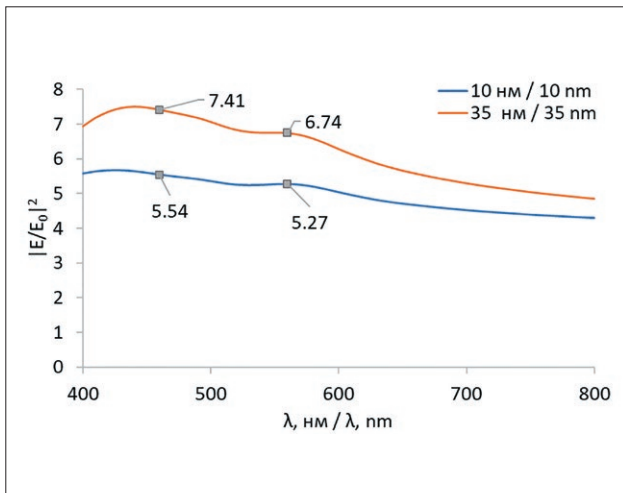
**Рис. 3.** а – спектры индуцируемых при лазерном сканировании «горячих точек», б – иллюстрация используемого метода усреднения. Показаны три «горячие точки», представляющие собой группу пикселей с различной яркостью. Для получения результирующих спектров проводили усреднение по пикселям с одинаковой яркостью (пиксель 1, пиксель 2 и т.д.) для четырех «горячих точек».

**Fig. 3.** а – spectra of laser-scanned «hot spots», б – illustration of the averaging method used. Three «hot spots» are shown, which are a group of pixels with different brightness. To obtain the resulting spectra, averaging was performed over pixels with the same brightness (pixel 1, pixel 2, etc.) for four «hot spots».



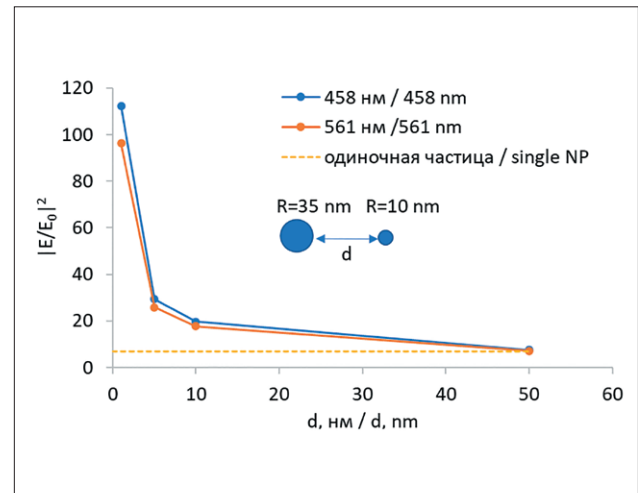
**Рис. 4.** Сечения рассеяния и поглощения для одиночных IONPs радиусом 10 нм и 35 нм, рассчитанные при помощи метода Т-матриц.

**Fig. 4.** Scattering and absorption cross sections for single IONPs with a radius of 10 nm and 35 nm, calculated using the T-matrix method.



**Рис. 5.** Фактор усиления поля для одиночных IONPs радиусом 10 нм и 35 нм, рассчитанный при помощи метода Т-матриц. Сносками показаны значения фактора усиления поля для длин волн 458 нм и 561 нм.

**Fig. 5.** Field enhancement factor for single IONPs with a radius of 10 nm and 35 nm, calculated using the T-matrix method. Data labels show the values of the field amplification factor for the wavelengths of 458 nm and 561 nm.



**Рис. 6.** Фактор усиления поля для димеров из двух IONPs радиусами 10 нм и 35 нм, рассчитанный при помощи метода конечных разностей во временной области для длин волн 458 нм и 561 нм в зависимости от расстояния между наночастицами  $d$ .

**Fig. 6.** Field enhancement factor for dimers from IONPs with a radius of 10 nm and 35 nm, calculated using the finite difference method in the time domain for wavelengths of 458 nm and 561 nm depending on the distance between nanoparticles  $d$ .

например [32]. Спектры свечения «горячих точек» приведены на рис. 3.

Форма зарегистрированных спектров «горячих точек» характерна для теплового излучения, что свидетельствует о высокой локальной температуре. Для анализа и интерпретации наблюдаемого эффекта, было проведено теоретическое моделирование локального усиления поля между IONPs с радиусом 10 нм и 35 нм (наибольший и наименьший размер НЧ в исследуемых коллоидах) и нагрева IONPs под действием лазерного излучения. Сечения рассеяния и поглощения для одиночных IONPs радиусом 10 нм и 35 нм, рассчитанные при помощи метода Т-матриц, приведены на рис. 4.

Зависимость фактора усиления поля для одиночных IONPs радиусом 10 нм и 35 нм от длины волны, рассчитанная при помощи метода Т-матриц, представлена на рис. 5.

Видно, что наблюдаемое усиление поля для отдельных IONPs довольно низкое. Для пары из двух частиц усиление поля существенно выше (см. рис. 6).

Максимальное значение усиления достигается при малом расстоянии между НЧ и составляет 112 и 96 при расстоянии между НЧ 1 нм для длин волн 458 нм и 561 нм соответственно. Такие значения усиления поля сопоставимы с усилением, получаемым на золотых НЧ. Фактор усиления экспоненциально зависит от расстояния между частицами (рис. 5) и стремится к значению, рассчитанному для большой частицы, при больших расстояниях между частицами. Значения фактора усиления, полученные в результате расчета для одиночных IONPs и димеров приведены в табл. 1.

**Таблица 1**

Фактор усиления поля, рассчитанный для одиночных IONP и их димеров

**Table 1**

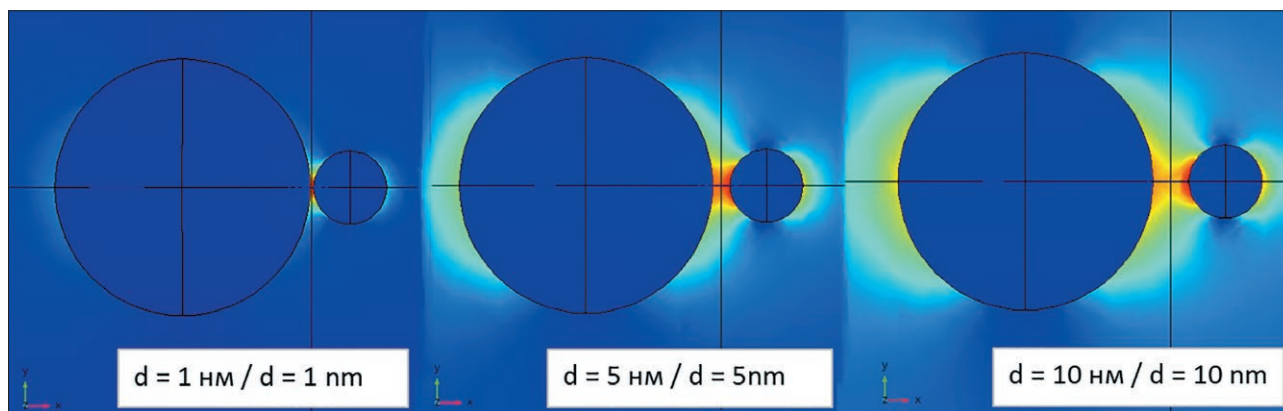
Field enhancement factor calculated for single IONPs and their dimers

Димеры IONPs IONPs dimers		
Параметр Parameter	$ E/E_0 ^2$	$ E/E_0 ^2$
$d$ , нм $d$ , nm	$\lambda = 458$ нм $\lambda = 458$ nm	$\lambda = 561$ нм $\lambda = 561$ nm
1	112	96
5	29	26
10	20	18
50	8	7
Одиночные IONPs Single IONPs		
$\lambda$ , нм $\lambda$ , nm	$ E/E_0 ^2$	$ E/E_0 ^2$
	$R = 10$ нм $R = 10$ nm	$R = 35$ нм $R = 35$ nm
460	6	8
560	5	7

Примечание:  $d$  – расстояние между наночастицами,  $\lambda$  – длина волны,  $R$  – радиус наночастиц.

Note:  $d$  – distance between nanoparticles,  $\lambda$  – wavelength,  $R$  – radius of nanoparticles.





**Рис. 7.** Пространственное распределение поля и локального усиления поля между IONPs с радиусами 10 нм и 35 нм в зависимости от расстояния между наночастицами  $d$ .

**Fig. 7.** Spatial field distribution and local field enhancement between IONPs with 10 nm and 35 nm radii depending on distance between NPs  $d$ .

**Таблица 2**

Время достижения установившегося режима  $\tau$  и относительное изменение температуры  $\Delta T$  под действием лазерного излучения для исследованных IONPs

**Table 2**

Time to reach steady state conditions  $\tau$  and relative temperature change  $\Delta T$  under the laser irradiation for the studied IONPs

НЧ / NPs	Среда / Medium	R, нм / R, nm	$\tau$ , мкс / $\tau$ , $\mu$ s	$\sigma_{abs}$ , нм <sup>2</sup> / $\sigma_{abs}$ , nm <sup>2</sup>	$\Delta T$ , °C	Источник / Reference
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	вода	10	0.001	50 (458 нм) 18 (560 нм)	4.4 1.1	эта работа / this work
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>		35	0.003	3522 (458 нм) 1157 (560 нм)	88.9 19.0	эта работа / this work
Au		50	0.019	(в работе не указано) / NA	100	[50]

Примечание: R – радиус наночастиц,  $\tau$  – время достижения установившегося режима,  $\sigma_{abs}$  – сечение поглощения наночастицы,  $\Delta T$  – относительное изменение температуры под действием лазерного излучения.

Note: R – radius of nanoparticles,  $\tau$  – time to reach steady state conditions,  $\sigma_{abs}$  – absorption cross section of nanoparticle,  $\Delta T$  – relative temperature change under the laser irradiation.

При анализе результатов, полученных для пространственного распределения поля, в электромагнитном взаимодействии двух частиц можно выделить несколько характерных зон (рис. 7).

При расстояниях более 10 нм частицы практически не взаимодействуют с друг другом. Фактор усиления практически соответствует случаю для отдельных IONPs, (табл. 1). При уменьшении расстояния менее 10 нм зоны усиления поля вокруг НЧ начинают перекрываться и возникают локальные «горячие точ-

ки», усиление в которых существенно превышает усиление поля для отдельных НЧ. При изменении расстояния от 10 нм до 1 нм наблюдается экспоненциальный рост фактора усиления поля, а также локализация возникающего усиления в малой области пространства между НЧ.

Значения температуры нагрева под действием лазерного излучения, рассчитанные для IONPs радиусом 10 нм и 35 нм (наименьший и наибольший размеры частиц, встречающиеся в коллоиде), под действием

лазерного излучения с длинами волн 458 нм и 561 нм приведены в табл. 2.

Показано, что температура нагрева больших НЧ (размер 70 нм) примерно соответствует температуре нагрева золотых НЧ размером 100 нм лазерным излучением в максимум поглощения. Суммарный нагрев НЧ размером 100 нм двумя длинами волн составляет 107,9 °C. Несмотря на достаточно высокую температуру нагрева, возникновение теплового свечения НЧ при таких температурах маловероятно. В связи с этим мы предполагаем, что наблюдаемые «горячие точки» возникают преимущественно за счет локального усиления поля.

Поскольку усиление поля сильно зависит от расстояния между частицами, мы исследовали влияние температуры на количество наблюдаемых «горячих точек». Предположительно, при повышении температуры частицы чаще оказываются на близком расстоянии друг от друга и число наблюдаемых «горячих точек» должно увеличиваться.

Изображение коллоида IONPs, полученное при лазерном сканировании длинами волн 488 нм и 561 нм приведено на рис. 8а. Зависимость количества «горячих точек» от температуры и концентрации частиц приведена на рис. 8б.

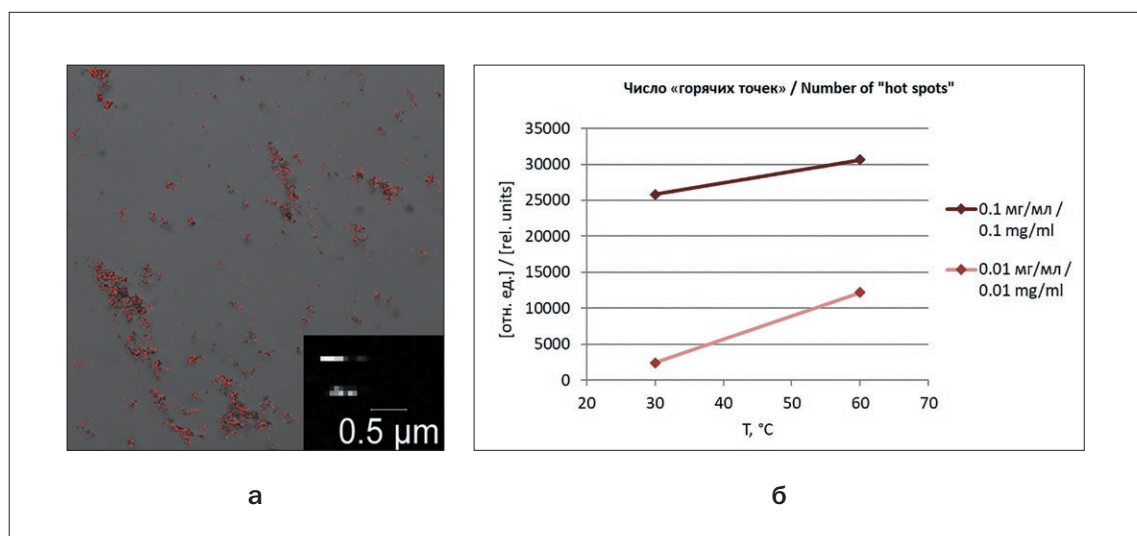
При увеличении температуры на 30 °C количество вспышек возросло в среднем примерно на 7000. Это связано с тем, что при увеличении температуры возрастает коэффициент диффузии, который пропорционален температуре, и частицы чаще подходят к друг другу. Таким образом, за счет более частых сближе-

ний НЧ, чаще происходит усиление, что подтверждает сделанное предположение о возникновении наблюдаемых «горячих точек» за счет локального усиления электромагнитного поля между НЧ.

## Обсуждение и заключение

За последние 20 лет значительно увеличилось количество сообщений, посвященных гипертермии. Многие авторы уделяют основное внимание эффекту локального нагрева, особому температурному профилю вблизи НЧ с незначительным или отсутствующим макроскопическим нагревом. Такой подход имеет множество преимуществ. Во-первых, эффект становится менее зависимым от количества НЧ, обычно требуемых для значительного повышения макроскопической температуры в целевой области. Следовательно, биологические ткани не подвергаются серьезному стрессу, а токсическое воздействие сильно локализовано. Во-вторых, тепловой профиль вокруг НЧ может вызвать высвобождение лекарства без термического повреждения зоны терапии.

Температурный профиль нагрева вблизи наночастицы сложно исследовать из-за наноскопических размеров и быстрого времени события. Измерения могут быть косвенными, например при помощи термочувствительных реакций, или прямой оценкой теплового градиента в интересующей области. Прямая оценка локального температурного профиля вокруг НЧ менее изучена [52]. При использовании нанотермометров, таких как ап-конверсионные НЧ [53], сенсоры на основе гибридизации ДНК [54] и термочув-



**Рис. 8.** а – красным цветом представлены «горячие точки» для водного коллоида IONPs с концентрацией 0,1 мг/мл при облучении одновременно лазерами с длинами волн 488 нм и 561 нм при 100% мощности; б – зависимости количества наблюдаемых вспышек от концентрации IONPs и температуры.

**Fig. 8.** а – red color represents «hot spots» for an aqueous colloid of IONPs with a concentration of 0.1 mg/ml under simultaneous irradiation with 488 nm and 561 nm lasers at 100% power; б – dependences of the number of observed «hot spots» on the concentration of IONPs and temperature.

ствительные полимеры [55] зафиксирован сильный температурный градиент от поверхности НЧ к окружающей среде.

Другим интересным эффектом является локальное усиление электромагнитного поля вблизи НЧ, которое может приводить к усилению интенсивности люминесценции НЧ и красителей [56], усилению сигнала Рамановского рассеяния [57], а также к увеличению эффективности генерации синглетного кислорода фотосенсибилизаторами [58]. В работе [59] показано, что усиление поля для золотых НЧ несферической формы  $E/E_0$  составляет от 25 до 35 раз. Использование димеров из золотых НЧ несферической формы и тщательная оптимизация их параметров позволила получить усиление поля, равное 270, для двух золотых НЧ эллиптической и сферической формы, в 1000 раз отличающихся по объему, расположенных на расстоянии 17 нм друг от друга. Усиление поля между двумя серебряными НЧ сферической формы с радиусом 0,5 и 5 нм, превышает усиление поля одной НЧ в 75 раз и составляет порядка 400 на длине волны резонанса.

В нашей работе продемонстрировано, что при лазерном возбуждении исследуемых IONPs на полученных изображениях наблюдаются отдельные области с ярким свечением, так называемые «горячие точки». В случае исследования *in vitro* данные точки были локализованы в областях накопления НЧ внутри клеток, предположительно в лизосомах. Воздействие на клеточные культуры лазерным излучением с высокой плотностью мощности приводит к клеточной гибели. Было сделано предположение, что причиной наблюдаемого эффекта может являться лазерно-индуцированный нагрев и/или локальное усиление электромагнитного поля вблизи поверхности НЧ.

Опираясь на зарегистрированные нами спектры свечения возникающих «горячих точек» в водном коллоиде полидисперсных IONPs при достаточно высокой плотности мощности лазерного сканирования ( $\text{МВт/см}^2$ ), характерной для теплового излучения, можно сделать выводы об очень высокой локальной температуре.

Однако при помощи теоретического моделирования было показано, что температура нагрева больших НЧ (размер 70 нм) примерно соответствует температуре нагрева золотых НЧ размером 100 нм непрерывным лазерным излучением в максимум поглоще-

ния. Суммарный нагрев НЧ размером 100 нм двумя длинами волн составляет  $107,9^\circ\text{C}$ . Несмотря на достаточно высокую температуру нагрева, возникновение теплового свечения НЧ при таких температурах маловероятно. Однако при достижении  $100^\circ\text{C}$  начинает закипать вода, НЧ окажется в пузырьке пара, это уменьшает скорость теплоотвода и приводит к еще большему перегреву. Следует отметить, что согласно литературным данным, в случае импульсного лазерного возбуждения нагрев может быть существенно выше и достигать 1000 К в момент окончания лазерного импульса [60].

Теоретическое моделирование локального усиления поля для IONPs с радиусом 10 нм и 35 нм показало, что зависимость фактора усиления для одиночных НЧ довольно низкая. Для пары из двух частиц радиусом 10 нм и 35 нм усиление поля существенно выше. Максимальное значение усиления достигается при малом расстоянии между НЧ и составляет два порядка при расстоянии между НЧ 1 нм. Такие значения усиления поля сопоставимы с усилением, получаемым для плазмонных НЧ из благородных металлов.

При расстояниях более 10 нм частицы практически не взаимодействуют друг с другом. При изменении расстояния от 10 нм до 1 нм наблюдается экспоненциальный рост фактора усиления поля, а также локализация возникающего усиления в малой области пространства между НЧ, возникают локальные «горячие точки». Также было показано [60], что в отличие от одиночных сферических НЧ, для которых наблюдается равномерное распределение температуры в объеме наночастицы, в случае димеров и тримеров из золотых НЧ при плазмонном резонансе в объеме частиц возникают горячие и холодные зоны. Местоположение максимальной плотности плазмы свободных электронов, окружающей НЧ, совпадает с местоположением «горячих точек» горячих зон с высокой температурой и с местоположением максимального усиления электрического поля внутри частиц.

Таким образом, наблюдаемое тепловое свечение может быть следствием локального усиления электрического поля в димерах из IONPs.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 21-52-12030 НННО\_а.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Xu X., Ho W., Zhang X., Bertrand N. and Farokhzad O. Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy//Trends in Molecular Medicine. – 2015. – Vol. 21 (4). – P. 223–232.
2. Borlan R., Focsan M., Maniu D. and Astilean S. Interventional NIR Fluorescence Imaging of Cancer: Review on Next Generation of Dye-Loaded Protein-Based Nanoparticles for Real-Time Feedback During Cancer Surgery//IJN 16. – 2021. – P. 2147–2171.
3. Dash B.S., Das S., Chen J.-P. Photosensitizer-Functionalized Nanocomposites for Light-Activated Cancer Theranostics//IJMS. 2021. – 22 (13). – P. 6658.
4. Liu G., Yang L., Chen G. et al. A Review on Drug Delivery System for Tumor Therapy//Front. Pharmacol. – 2021. – Vol. 12. – P. 735446.
5. Wust P., Hildebrandt B., Sreenivasa G., Rau B. et al. Hyperthermia in combined treatment of cancer//The Lancet Oncology. – 2002. – Vol. 3 (8). – P. 487–497.
6. Kolosnjaj-Tabi J., Wilhelm C. Magnetic nanoparticles in cancer therapy: how can thermal approaches help?//Nanomedicine. – 2017. – Vol. 12 (6). – P. 573–575.
7. Сидоров Д.В., Гришин Н.А., Ложкин М.В., Троицкий А.А., Мошуров Р.И., Быкасов С.А., Урлова А.Н., Филоненко Е.В. Интраоперационная фотодинамическая терапия и гипертермическая внутрибрюшная химиотерапия при циторедуктивном хирургическом лечении больных диссеминированной муцинозной карциномой аппендикса//Biomedical Photonics. 20. – Т. 9, № 4. – P. 23–30. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2020-9-4-23-30>
8. Каприн А.Д., Мардынский Ю.С., Смирнов В.П., Иванов С.А., Костин А.А., Полихов С.А., Решетов И.В., Фатьянова А.С., Денисенко М.В., Эпатов Т.В., Коренев С.В., Терещенко А.В., Филоненко Е.В., Гафаров М.М., Романко Ю.С. К истории развития лучевой терапии (часть I)//Biomedical Photonics. – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 52–62. doi: 10.24931/2413-9432-2019-8-1-52-62.
9. Horsman M.R. Tissue physiology and the response to heat//International Journal of Hyperthermia. – 2006. – Vol. 22 (3). – P. 197–203.
10. Kolosnjaj-Tabi J., Di Corato R., Lartigue L. et al. Heat-Generating Iron Oxide Nanocubes: Subtle “Deconstructors” of the Tumoral Microenvironment//ACS Nano. – 2014. – Vol. 8 (5). – P. 4268–4283.
11. Mohamed F., Marchettini P., Stuart O.A. et al. Thermal Enhancement of New Chemotherapeutic Agents at Moderate Hyperthermia//Ann Surg Oncol. – 2003. – Vol. 10 (4). – P. 463–468.
12. Issels R. Hyperthermia Combined with Chemotherapy – Biological Rationale, Clinical Application, and Treatment Results//Oncol Res Treat. – 1999. – Vol. 22 (5). – P. 374–381.
13. Suit H.D. and Gerweck L.E., Potential for hyperthermia and radiation therapy//Cancer Res. – 1979. – Vol. 39 (6 Pt 2). – P. 2290–2298.
14. Spiro S., Basini M., Lascialfari A. et al. Magnetic Hyperthermia and Radiation Therapy: Radiobiological Principles and Current Practice//Nanomaterials. – 2018. – Vol. 8 (6). – P. 401.
15. Dahl O. Status of Clinical Hyperthermia//Acta Oncologica. – 1999. – Vol. 38 (7). – P. 863–873.
16. Hynynen K., Shimm D., Anhalt D. et al. Temperature distributions during clinical scanned, focused ultrasound hyperthermia treatments//International Journal of Hyperthermia. – 1990. – Vol. 6 (5). – P. 891–908.
17. Горшкова А.С., Шилов И.П., Иванов А.В., Румянцев В.Д. Синтез и исследование наночастиц для магнитно-люминесцентной тераностики опухолей на основе Yb-комплекса ДМЭ протопорфирина IX и оксида железа//Материалы IX Международного конгресса «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» Москва 23–24 октября 2020 г. Biomedical Photonics. 20. – Т. 9, № 4с. – P. 5–6.

## REFERENCES

1. X. Xu, W. Ho, X. Zhang, N. Bertrand, and O. Farokhzad, Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy, *Trends in Molecular Medicine*, 2015, vol. 21, no. 4, pp. 223–232.
2. R. Borlan, M. Focsan, D. Maniu, and S. Astilean, Interventional NIR Fluorescence Imaging of Cancer: Review on Next Generation of Dye-Loaded Protein-Based Nanoparticles for Real-Time Feedback During Cancer Surgery, *IJN* 16, 2021, pp. 2147–2171.
3. B.S. Dash, S. Das, and J.-P. Chen, Photosensitizer-Functionalized Nanocomposites for Light-Activated Cancer Theranostics, *IJMS*, 2021, vol. 22, no. 13, pp. 6658.
4. G. Liu, L. Yang, G. Chen et al., A Review on Drug Delivery System for Tumor Therapy, *Front. Pharmacol*, 2021, vol. 12, pp. 735446.
5. P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, B. Rau, et al., Hyperthermia in combined treatment of cancer, *The Lancet Oncology*, 2002, vol. 3, no. 8, pp. 487–497.
6. J. Kolosnjaj-Tabi and C. Wilhelm, Magnetic nanoparticles in cancer therapy: how can thermal approaches help? *Nanomedicine*, 2017, vol. 12, no. 6, pp. 573–575.
7. Sidorov D.V., Grishin N.A., Lozhkin M.V., Troitsky A.A., Moshurov R.I., Bykasov S.A., Urlova A.N., Filonenko E.V. Intraoperative photodynamic therapy and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in cytoreductive treatment of patients with disseminated mucinous carcinoma of appendix, *Biomedical Photonics*, 2020, vol. 9, no. 4, pp. 23–30 (in Russian) doi: 10.24931/2413-9432-2020-9-4-23-30
8. Kaprin A.D., Mardinskiy Yu.S., Smirnov V.P., Ivanov S.A., Kostin A.A., Polikhov S.A., Reshetov I.V., Fatianova A.S., Denisenko M.V., Epatova T.V., Korenev S.V., Tereshchenko A.V., Filonenko E.V., Gafarov M.M., Romanko Yu.S. The history of radiation therapy (part I), *Biomedical Photonics*, 2019, vol. 8, no. 1, pp. 52–62 (in Russian). doi: 10.24931/2413-9432-2019-8-1-52-62
9. M.R. Horsman, Tissue physiology and the response to heat, *International Journal of Hyperthermia*, 2006, vol. 22, no. 3, pp. 197–203.
10. J. Kolosnjaj-Tabi, R. Di Corato, L. Lartigue, et al., Heat-Generating Iron Oxide Nanocubes: Subtle “Deconstructors” of the Tumoral Microenvironment, *ACS Nano*, 2014, vol. 8, no. 5, pp. 4268–4283.
11. F. Mohamed, P. Marchettini, O.A. Stuart et al., Thermal Enhancement of New Chemotherapeutic Agents at Moderate Hyperthermia, *Ann Surg Oncol*, 2003, vol. 10, no. 4, pp. 463–468.
12. R. Issels, Hyperthermia Combined with Chemotherapy – Biological Rationale, Clinical Application, and Treatment Results, *Oncol Res Treat*, 1999, vol. 22, no. 5, pp. 374–381.
13. H.D. Suit and L.E. Gerweck, Potential for hyperthermia and radiation therapy, *Cancer Res*, 1979, vol. 39 (6 Pt 2), pp. 2290–2298.
14. S. Spiro, M. Basini, A. Lascialfari et al., Magnetic Hyperthermia and Radiation Therapy: Radiobiological Principles and Current Practice, *Nanomaterials*, 2018, vol. 8, no. 6, pp. 401.
15. O. Dahl, Status of Clinical Hyperthermia, *Acta Oncologica*, 1999, vol. 38, no. 7, pp. 863–873.
16. K. Hynynen, D. Shimm, D. Anhalt et al., Temperature distributions during clinical scanned, focused ultrasound hyperthermia treatments, *International Journal of Hyperthermia*, 1990, vol. 5, no. 5, pp. 891–908.
17. Gorshkova A.S., Shilov I.P., Ivanov A.V., Rumyantseva V.D. Synthesis and research of nanoparticles for magnetic-luminescent tumor theranostics based on the Yb-complex of DME protoporphyrin IX and iron oxide. Proceedings of the IX International Congress “Photodynamic therapy and photodiagnostics” Moscow October 23–24, 2020, *Biomedical Photonics*. 2020, vol. 8, no. 4s, pp. 5–6.
18. V. Mulens-Arias, J.M. Rojas, and D.F. Barber, The Use of Iron Oxide Nanoparticles to Reprogram Macrophage Responses and the Immunological Tumor Microenvironment. *Front. Immunol*, 2021, vol. 12, pp. 693709.



18. Mulens-Arias V., Rojas J.M. and Barber D.F. The Use of Iron Oxide Nanoparticles to Reprogram Macrophage Responses and the Immunological Tumor Microenvironment//Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12. – P. 693709.
19. Zanganeh S., Hutter G., Spitler R. et al. Iron oxide nanoparticles inhibit tumour growth by inducing pro-inflammatory macrophage polarization in tumour tissues//Nature Nanotech. – 2016. – Vol. 11 (11). – P. 986–994.
20. Gaharwar U.S. Meena R., and Rajamani P., Iron oxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in lymphocytes: Iron oxide nanoparticles toxicity in lymphocytes//J. Appl. Toxicol. – 2017. – Vol. 37 (10). – P. 1232–1244.
21. Malvindi M.A., Matteis V. De, A Galeone. et al. Toxicity Assessment of Silica Coated Iron Oxide Nanoparticles and Biocompatibility Improvement by Surface Engineering//PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9 (1). – P. e85835.
22. Arias L., Pessan J., Vieira A. et al. Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity//Antibiotics. – 2018. – Vol. 7 (2). – P. 46.
23. Sun R., Chen H., Sutrisno L., Kawazoe N., and Chen G., Nanomaterials and their composite scaffolds for photothermal therapy and tissue engineering applications//Science and Technology of Advanced Materials. – 2021. – Vol. 22 (1). – P. 404–428.
24. Liu Q., Liu L., Mo C., Zhou X. et al. Polyethylene glycol-coated ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles-coupled sialyl Lewis X nanotheranostic platform for nasopharyngeal carcinoma imaging and photothermal therapy//J Nanobiotechnol. – 2021. – Vol. 19 (1). – P. 171.
25. Ovejero J.G., Armenia I., Serantes D. et al. Selective Magnetic Nanoheating: Combining Iron Oxide Nanoparticles for Multi-Hot-Spot Induction and Sequential Regulation//Nano Lett. – 2021. – Vol. 21 (17). – P. 7213–7220.
26. Shi D., Sadat M.E., Dunn A.W., and Mast D.B., Photo-fluorescent and magnetic properties of iron oxide nanoparticles for biomedical applications//Nanoscale. – 2015. – Vol. 7 (18). – P. 8209–8232.
27. Vallejo-Fernandez G., Whear O., Roca A.G. et al. Mechanisms of hyperthermia in magnetic nanoparticles//J. Phys. D: Appl. Phys. – 2013. – Vol. 46 (31). – P. 312001.
28. Espinosa A., Kolosnjaj-Tabi J., Abou-Hassan A. et al. Magnetic (Hyper)Thermia or Photothermia? Progressive Comparison of Iron Oxide and Gold Nanoparticles Heating in Water, in Cells, and In Vivo//Adv. Funct. Mater. – 2018. – Vol. 28 (37). – P. 1803660.
29. Johannsen M., Gneveckow U., Thiesen B. et al. Thermotherapy of Prostate Cancer Using Magnetic Nanoparticles: Feasibility, Imaging, and Three-Dimensional Temperature Distribution//European Urology. – 2007. – Vol. 52 (6). – P. 1653–1662.
30. Guardia P., R. Corato Di, Lartigue L. et al., Water-Soluble Iron Oxide Nanocubes with High Values of Specific Absorption Rate for Cancer Cell Hyperthermia Treatment//ACS Nano. – 2012. – Vol. 6 (4). – P. 3080–3091.
31. Martinez-Boubeta C., Simeonidis K., Makridis A. et al., Learning from Nature to Improve the Heat Generation of Iron-Oxide Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Applications//Sci Rep. – 2013. – Vol. 3 (1). – P. 1652.
32. Espinosa A., R. Corato Di, Kolosnjaj-Tabi J. et al., Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy: Amplification of Heating Efficiency by Magnetic Hyperthermia and Photothermal Bimodal Treatment//ACS Nano. – 2016. – Vol. 10 (2). – P. 2436–2446.
33. Yan H., Shang W., X. Sun, L. Zhao et al., "All-in-One" Nanoparticles for Trimodality Imaging-Guided Intracellular Photo-magnetic Hyperthermia Therapy under Intravenous Administration//Adv. Funct. Mater. – 2018. – Vol. 28 (9). – P. 1705710.
34. Lin S.-Y., Huang R.-Y., Liao W.-C. et al. Multifunctional PEGylated Albumin/IR780-Iron Oxide Nanocomplexes for Cancer
19. S. Zanganeh, G. Hutter, R. Spitler et al., Iron oxide nanoparticles inhibit tumour growth by inducing pro-inflammatory macrophage polarization in tumour tissues. *Nature Nanotech*, 2016, vol. 11, no. 11, pp. 986–994.
20. U.S. Gaharwar, R. Meena, and P. Rajamani, Iron oxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in lymphocytes: Iron oxide nanoparticles toxicity in lymphocytes, *J. Appl. Toxicol*, 2017, vol. 37, no. 10, pp. 1232–1244.
21. M.A. Malvindi, V. De Matteis, A. Galeone et al., Toxicity Assessment of Silica Coated Iron Oxide Nanoparticles and Biocompatibility Improvement by Surface Engineering, *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9 (1), pp. e85835.
22. L. Arias, J. Pessan, A. Vieira et al., Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity, *Antibiotics*, 2018, vol. 7, no. 2, pp. 46.
23. R. Sun, H. Chen, L. Sutrisno, N. Kawazoe, and G. Chen, Nanomaterials and their composite scaffolds for photothermal therapy and tissue engineering applications, *Science and Technology of Advanced Materials*, 2021, vol. 22, no. 1, pp. 404–428.
24. Q. Liu, L. Liu, C. Mo, X. Zhou et al., Polyethylene glycol-coated ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles-coupled sialyl Lewis X nanotheranostic platform for nasopharyngeal carcinoma imaging and photothermal therapy, *J Nanobiotechnol*, 2021, vol. 19, no. 1, pp. 171.
25. J.G. Ovejero, I. Armenia, D. Serantes et al., Selective Magnetic Nanoheating: Combining Iron Oxide Nanoparticles for Multi-Hot-Spot Induction and Sequential Regulation, *Nano Lett*, 2021, vol. 21, no. 17, pp. 7213–7220.
26. D. Shi, M. E. Sadat, A. W. Dunn, and D. B. Mast, Photo-fluorescent and magnetic properties of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Nanoscale*, 2015, vol. 7, no. 18, pp. 8209–8232.
27. G. Vallejo-Fernandez, O. Whear, A. G. Roca et al., Mechanisms of hyperthermia in magnetic nanoparticles, *J. Phys. D: Appl. Phys*, 2013, vol. 46, no. 31, pp. 312001.
28. A. Espinosa, J. Kolosnjaj-Tabi, A. Abou-Hassan et al., Magnetic (Hyper)Thermia or Photothermia? Progressive Comparison of Iron Oxide and Gold Nanoparticles Heating in Water, in Cells, and In Vivo, *Adv. Funct. Mater*, 2018, vol. 28, no. 37, pp. 1803660.
29. M. Johannsen, U. Gneveckow, B. Thiesen et al., Thermotherapy of Prostate Cancer Using Magnetic Nanoparticles: Feasibility, Imaging, and Three-Dimensional Temperature Distribution, *European Urology*, 2007, vol. 52, no. 6, pp. 1653–1662.
30. P. Guardia, R. Di Corato, L. Lartigue et al., Water-Soluble Iron Oxide Nanocubes with High Values of Specific Absorption Rate for Cancer Cell Hyperthermia Treatment, *ACS Nano*, 2012, vol. 6, no. 4, pp. 3080–3091.
31. C. Martinez-Boubeta, K. Simeonidis, A. Makridis et al., Learning from Nature to Improve the Heat Generation of Iron-Oxide Nanoparticles for Magnetic Hyperthermia Applications, *Sci Rep*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 1652.
32. A. Espinosa, R. Di Corato, J. Kolosnjaj-Tabi et al., Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy: Amplification of Heating Efficiency by Magnetic Hyperthermia and Photothermal Bimodal Treatment, *ACS Nano*, 2016, vol. 10, no. 2, pp. 2436–2446.
33. H. Yan, W. Shang, X. Sun, L. Zhao et al., "All-in-One" Nanoparticles for Trimodality Imaging-Guided Intracellular Photo-magnetic Hyperthermia Therapy under Intravenous Administration, *Adv. Funct. Mater*, 2018, vol. 28, no. 9 pp. 1705710.
34. S.-Y. Lin, R.-Y. Huang, W.-C. Liao et al., Multifunctional PEGylated Albumin/IR780/Iron Oxide Nanocomplexes for Cancer Photothermal Therapy and MR Imaging, *Nanotheranostics*, 2018, vol. 2, no. 2, pp. 106–116.
35. S. Cabana, A. Curcio, A. Michel, C. Wilhelm, and A. Abou-Hassan, Iron Oxide Mediated Photothermal Therapy in the Second Biological Window: A Comparative Study between Magnetite/Maghemite Nanospheres and Nanoflowers, *Nanomaterials*, 2020, vol. 10, no. 8, pp. 1548.

- Photothermal Therapy and MR Imaging//Nanotheranostics. – 2018. – Vol. 2 (2). – P. 106–116.
35. Cabana S., Curcio A., Michel A., Wilhelm C., and Abou-Hassan A. Iron Oxide Mediated Photothermal Therapy in the Second Biological Window: A Comparative Study between Magnetite/Maghemite Nanospheres and Nanoflowers//Nanomaterials. – 2020. – Vol.10 (8). – P.1548.
36. Shi J., Yu X., Wang L., Liu Y. et al. PEGylated fullerene/iron oxide nanocomposites for photodynamic therapy, targeted drug delivery and MR imaging//Biomaterials. – 2013. – Vol. 34 (37). – P. 9666–9677.
37. Penon O., Marín M.J., Amabilino D.B., Russell D.A. and Pérez-García L. Iron oxide nanoparticles functionalized with novel hydrophobic and hydrophilic porphyrins as potential agents for photodynamic therapy//Journal of Colloid and Interface Science. – 2016. – Vol. 462. – P. 154–165.
38. Климов В.В., Нанооплазмоника//2nd ed. Физматлит. – 2010.
39. Bashevoy M.V., Fedotov V.A., and Zheludev N.I. Optical whirlpool on an absorbing metallic nanoparticle//Opt. Express. – 2005. – Vol. 13 (21). – P. 8372.
40. Sharma S.K., Shrivastava N., Rossi F. et al. Nanoparticles-based magnetic and photo induced hyperthermia for cancer treatment//Nano Today. – 2019. – Vol. 29. – P. 100795.
41. Lozano-Pedraza C., Plaza-Mayoral E., Espinosa A., Sot B., et al. Assessing the parameters modulating optical losses of iron oxide nanoparticles under near infrared irradiation//Nanoscale Adv. – 2021. – Vol. 3 (22). – P. 6490–6502.
42. Jeong Y., Kook Y.-M., Lee K., and Koh W.-G. Metal enhanced fluorescence (MEF) for biosensors: General approaches and a review of recent developments//Biosensors and Bioelectronics. – 2018. – Vol. 111. – P. 102–116.
43. M.M. Sigalas, D.A. Fattal, R.S. Williams, et al., Electric field enhancement between two Si microdisks//Opt. Express. – 2007. – Vol. 15 (22). – P. 14711.
44. S. Toroghi and P.G. Kik, Photothermal response enhancement in heterogeneous plasmon-resonant nanoparticle trimmers//Phys. Rev. B. – 2014. – Vol. 90 (20). – P. 205414.
45. N.G. Khlebtsov, T-matrix method in plasmonics: An overview//Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer. – 2013. – Vol. 123. – P. 184–217.
46. D.W. Mackowski and M.I. Mishchenko, A multiple sphere T-matrix Fortran code for use on parallel computer clusters//Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer. – 2011. – Vol. 112 (13). – P. 2182–2192.
47. A.D. Rakić, A.B. Djurišić, J.M. Elazar, and M.L. Majewski, "Optical properties of metallic films for vertical-cavity optoelectronic devices//Appl. Opt. – 1998. – Vol. 37 (22). – P. 5271.
48. M.R. Querry, Optical Constants//MISSOURI UNIV-KANSAS CITY. – 1985.
49. S. Farooq and R.E. de Araujo, Engineering a Localized Surface Plasmon Resonance Platform for Molecular Biosensing, OJAppS, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 126–139.
50. Kholodtsova M.N., Grachev P.V., W. Blondel C. et al., Application of devices for space-resolved spectroscopy on the example of two-layer phantoms containing metallic nanoparticles//Biomedical Photonics. – 2018. – Vol. 7 (2). – P. 4–12.
51. Baffou G., Quidant R., and García de Abajo F.J. Nanoscale Control of Optical Heating in Complex Plasmonic Systems//ACS Nano. – 2010. – Vol. 4 (2). – P. 709–716.
52. Cazares-Cortes E., Cabana S., Boitard C. et al., Recent insights in magnetic hyperthermia: From the "hot-spot" effect for local delivery to combined magneto-photo-thermia using magneto-plasmonic hybrids//Advanced Drug Delivery Reviews. – 2019. – Vol. 138. – P. 233–246.
53. Dong J. and Zink J.I. Taking the Temperature of the Interiors of Magnetically Heated Nanoparticles//ACS Nano. – 2014. – Vol. 8 (5). – P. 5199–5207.
36. J. Shi, X. Yu, L. Wang, Y. Liu et al., PEGylated fullerene/iron oxide nanocomposites for photodynamic therapy, targeted drug delivery and MR imaging, Biomaterials, 2013, vol. 34, no. 37, pp. 9666–9677.
37. O. Penon, M.J. Marín, D.B. Amabilino, D.A. Russell, and L. Pérez-García, Iron oxide nanoparticles functionalized with novel hydrophobic and hydrophilic porphyrins as potential agents for photodynamic therapy, Journal of Colloid and Interface Science, 2016, vol. 462, pp. 154–165.
38. V.V. Klimov, Nanoplasmonics. 2nd ed. Fizmatlit, 2010.
39. M.V. Bashevoy, V.A. Fedotov, and N.I. Zheludev, Optical whirlpool on an absorbing metallic nanoparticle, Opt. Express, 2005, vol. 13, no. 21, pp. 8372.
40. S.K. Sharma, N. Shrivastava, F. Rossi et al., Nanoparticles-based magnetic and photo induced hyperthermia for cancer treatment, Nano Today, 2019, vol. 29, pp. 100795.
41. C. Lozano-Pedraza, E. Plaza-Mayoral, A. Espinosa, B. Sot, et al., Assessing the parameters modulating optical losses of iron oxide nanoparticles under near infrared irradiation, Nanoscale Adv, 2021, vol. 3, no. 22, pp. 6490–6502.
42. Y. Jeong, Y.-M. Kook, K. Lee, and W.-G. Koh, Metal enhanced fluorescence (MEF) for biosensors: General approaches and a review of recent developments, Biosensors and Bioelectronics, 2018, vol. 111, pp. 102–116.
43. M.M. Sigalas, D.A. Fattal, R.S. Williams, et al., Electric field enhancement between two Si microdisks, Opt. Express, 2007, vol. 15, no. 22, pp. 14711.
44. S. Toroghi and P.G. Kik, Photothermal response enhancement in heterogeneous plasmon-resonant nanoparticle trimmers, Phys. Rev. B., 2014, vol. 90, no. 20, pp. 205414.
45. N.G. Khlebtsov, T-matrix method in plasmonics: An overview, Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, 2013, vol. 123, pp. 184–217.
46. D.W. Mackowski and M.I. Mishchenko, A multiple sphere T-matrix Fortran code for use on parallel computer clusters, Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, 2011, vol. 112, no. 13, pp. 2182–2192.
47. A.D. Rakić, A.B. Djurišić, J.M. Elazar, and M.L. Majewski, "Optical properties of metallic films for vertical-cavity optoelectronic devices, Appl. Opt., 1998, vol. 37, no. 22, pp. 5271.
48. M.R. Querry, Optical Constants. MISSOURI UNIV-KANSAS CITY, 1985.
49. S. Farooq and R.E. de Araujo, Engineering a Localized Surface Plasmon Resonance Platform for Molecular Biosensing, OJAppS, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 126–139.
50. M.N. Kholodtsova, P.V. Grachev, W.C. Blondel, et al., Application of devices for space-resolved spectroscopy on the example of two-layer phantoms containing metallic nanoparticles, Biomedical Photonics, 2018, vol. 7, no. 2, pp. 4–12.
51. G. Baffou, R. Quidant, and F.J. García de Abajo, Nanoscale Control of Optical Heating in Complex Plasmonic Systems, ACS Nano, 2010, vol. 4, no. 2, pp. 709–716.
52. E. Cazares-Cortes, S. Cabana, C. Boitard, et al., Recent insights in magnetic hyperthermia: From the "hot-spot" effect for local delivery to combined magneto-photo-thermia using magneto-plasmonic hybrids, Advanced Drug Delivery Reviews, 2019, vol. 138, pp. 233–246.
53. J. Dong and J.I. Zink, Taking the Temperature of the Interiors of Magnetically Heated Nanoparticles, ACS Nano, 2014, vol. 8, no. 5, pp. 5199–5207.
54. D. Gareau, A. Desrosiers, and A. Vallée-Bélisle, Programmable Quantitative DNA Nanothermometers, Nano Lett, 2016, vol. 16, no. 7, pp. 3976–3981.
55. A. Riedinger, P. Guardia, A. Curcio, et al., Subnanometer Local Temperature Probing and Remotely Controlled Drug Release Based on Azo-Functionalized Iron Oxide Nanoparticles, Nano Lett, 2013, vol. 13, no. 6, pp. 2399–2406.

54. Gareau D., Desrosiers A., and Vallée-Bélisle A. Programmable Quantitative DNA Nanothermometers//Nano Lett. – 2016. – Vol. 16 (7). – P. 3976–3981.
55. Riedinger A., Guardia P., Curcio A. et al., Subnanometer Local Temperature Probing and Remotely Controlled Drug Release Based on Azo-Functionalized Iron Oxide Nanoparticles//Nano Lett. – 2013. – Vol. 13 (6). – P. 2399–2406.
56. Joyce C., Fothergill S.M., Xie F. Recent advances in gold-based metal enhanced fluorescence platforms for diagnosis and imaging in the near-infrared//Materials Today Advances. – 2020. – Vol. 7. – P. 100073.
57. Ángela I. López-Lorente, Recent developments on gold nanostructures for surface enhanced Raman spectroscopy: Particle shape, substrates and analytical applications//A review, *Analytica Chimica Acta*, 2021, vol. 1168, pp. 338474.
58. Sajid Farooq, Renato E. de Araujo, identifying high performance gold nanoshells for singlet oxygen generation enhancement//Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2021. – Vol. 35. – P. 102466.
59. Seyfollah Toroghi and Pieter G. Kik Cascaded plasmon resonant field enhancement in nanoparticle dimers in the point dipole limit Appl//Phys. Lett. – 2013. – Vol. 100. – P. 183105.
60. Y.R. Davletshin, J.C. Kumaradas, J. Beilstein Nanotechnol. – 2016. – Vol. 7. – P. 869–880. doi:10.3762/bjnano.7.79
56. C. Joyce, S.M. Fothergill, F. Xie, Recent advances in gold-based metal enhanced fluorescence platforms for diagnosis and imaging in the near-infrared, *Materials Today Advances*, 2020, vol. 7, pp. 100073.
57. Ángela I. López-Lorente, Recent developments on gold nanostructures for surface enhanced Raman spectroscopy: Particle shape, substrates and analytical applications, *A review, Analytica Chimica Acta*, 2021, vol. 1168, pp. 338474.
58. Sajid Farooq, Renato E. de Araujo, identifying high performance gold nanoshells for singlet oxygen generation enhancement, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2021, vol. 35, pp. 102466.
59. Seyfollah Toroghi and Pieter G. Kik Cascaded plasmon resonant field enhancement in nanoparticle dimers in the point dipole limit Appl, *Phys. Lett*, 2013, vol. 100, pp. 183105.
60. Davletshin Y.R., Kumaradas J.C., *J. Beilstein Nanotechnol*, 2016, vol. 7, pp. 869–880. doi:10.3762/bjnano.7.79