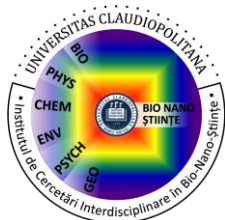




UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI
BABEȘ-BOLYAI TUDOMÁNYEGYETEM
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITÄT
BABEȘ-BOLYAI UNIVERSITY
TRADITIO ET EXCELLENTIA

Institutul de Studii Doctorale
Universitatea Babeș-Bolyai



Universitatea Babeș-Bolyai
Facultatea de Fizică
– Școala Doctorală de Fizică –



Rezumatul tezei de doctorat

Nanoparticule ultramici de oxid de fier pentru imagistică prin rezonanță magnetică și aplicații biomedicale activate prin lumină: proiectare și evaluarea performanțelor

Radu Cristian Lăpușan

Coordonator științific
Conf. univ. dr. habil. Monica Focșan

Cluj-Napoca
2026

Introducere

În medicina contemporană, tehnologia avansată joacă un rol fundamental în diagnosticul și tratamentul bolilor. Sistemele imagistice de înaltă performanță au devenit esențiale pentru luarea deciziilor clinice, imagistica prin raze X și tomografia computerizată, tomografia cu emisie de pozitroni, tomografia computerizată cu emisie de foton unic, mamografia, ecografia și imagistica prin rezonanță magnetică (IRM) furnizând informații anatomice și funcționale complementare. Dintre aceste modalități, IRM este deosebit de valoroasă deoarece combină un contrast excelent al țesuturilor moi și o rezoluție spațială ridicată cu absența radiațiilor ionizante, fiind adecvată examinărilor repetate și unei game largi de aplicații neurologice, oncologice, musculoscheletale și vasculare [1], [2].

Informația diagnostică furnizată de IRM este determinată de răspunsul protonilor apei tisulare la un câmp magnetic extern intens și la excitația prin radiofrecvență. Diferențele dintre relaxarea longitudinală (T_1) și transversală (T_2/T_2^*) generează contrastul tisular, iar agenții de contrast exogeni pot modifica suplimentar aceste procese de relaxare [3]. Agenții de contrast pe bază de gadolinu rămân standardul clinic pentru accentuarea semnalului T_1 ; totuși, dovezile privind retenția gadoliniului, împreună cu restricțiile asociate insuficienței renale și fibrozei sistemice nefrogenice pentru anumite formulări, mențin necesitatea dezvoltării unor strategii alternative de contrast [4], [5].

Nanoparticulele de oxid de fier sunt deosebit de atractive în acest context deoarece comportamentul lor magnetic poate fi ajustat prin dimensiunea miezului, cristalinitate, starea de agregare și chimia suprafeței. Comportamentul relaxometric nu este, așadar, determinat exclusiv de miezul magnetic: accesibilitatea apei, dimensiunea hidrodinamică, grosimea stratului de acoperire și asocierea particulelor la scară nanometrică pot influența semnalul IRM final. Formulările cu dimensiuni ultramici pot susține creșterea semnalului pe imaginile ponderate T_1 în condiții adecvate, în timp ce agregarea și efectele de susceptibilitate favorizează un contrast T_2/T_2^* intens. Această capacitate de a prezenta un comportament dependent de câmp și de mediul de dispersie oferă posibilitatea proiectării raționale a unor agenți IRM cu potențial dual T_1/T_2 .

Dincolo de imagistică, nanostructurile de oxid de fier pot funcționa și ca platforme de conversie a energiei. Iradierea în infraroșul apropiat (NIR) este deosebit de atractivă pentru aplicațiile biomedicale deoarece, în anumite ferestre NIR, absorbția și împrăștierea

optică sunt reduse comparativ cu domeniul vizibil, ceea ce crește profunzimea de penetrare în țesut și permite încălzirea localizată. Capacitatea sistemelor pe bază de oxid de fier de a combina contrastul IRM cu efecte termice declanșate prin iradiere NIR deschide calea către platforme teranostice în care imagistica poate ghida, monitoriza sau valida o intervenție terapeutică.

Obiectivul central al acestei teze de doctorat este, prin urmare, dezvoltarea și validarea unui cadru rațional pentru proiectarea nanoparticulelor magnetice ultramici de Fe_3O_4 ca nanoplatformă multifuncțională, conectând sinteza reproductibilă și caracterizarea fizico-chimică cantitativă cu comportamentul de relaxare relevant pentru IRM și cu funcționalitatea terapeutică activată de lumină. Un principiu metodologic recurent pe parcursul lucrării este acela că performanțele magnetice și optice trebuie interpretate împreună cu comportamentul coloidal, deoarece agregarea dependentă de concentrație și de mediul de dispersie poate domina atât răspunsul de relaxare, cât și performanța fototermică efectivă.

Teza este organizată în două părți principale. Partea I, IRM și nanoparticule magnetice: stadiul actual al cunoașterii, cuprinde Capitolele 1 și 2. Aceasta prezintă principiile fizice ale IRM, rolul și limitările agenților de contrast existenți și evoluția translațională a nanoparticulelor magnetice, urmate de o analiză critică a aplicațiilor lor în imagistica inflamației, infecției, patologiei vasculare, urmărirea celulară, evaluarea ganglionilor limfatici și imagistica tumorală. O parte a acestei analize a literaturii a fost publicată în *Nanoscale Advances* în 2024, în articolul „Advancing MRI with magnetic nanoparticles: a comprehensive review of translational research and clinical trials” [6].

Partea a II-a, Contribuții originale, cuprinde Capitolele 3–6. Capitolul 3 prezintă sinteza nanoparticulelor ultramici de Fe_3O_4 și caracterizarea lor sistematică structurală, coloidală, magnetică și relaxometrică. Capitolul 4 evaluează performanța IRM atât la intensități de câmp magnetic preclinice, cât și clinice, în fantome care mimează țesutul, și investighează răspunsul fototermic indus de NIR. Capitolul 5 dezvoltă un strat biocompatibil de albumină serică bovină (BSA) și introduce funcționalizarea cu curcumină, iar Capitolul 6 validează platforma funcționalizată prin teste IRM/RMN, măsurători fotodinamice, studii de viabilitate celulară și studii de captare bazate pe fluorescență în modele de cancer colorectal C26, inclusiv sferoizi tridimensionali.

În ansamblu, lucrarea urmează o logică progresivă de proiectare: sunt dezvoltate și caracterizate mai întâi miezurile magnetice ultramici; apoi este stabilit comportamentul

magnetic dependent de concentrație și de mediu; același miez este evaluat ca platformă IRM/fototermică în medii care mimează țesutul; în final, ingineria suprafeței este utilizată pentru îmbunătățirea compatibilității biologice și pentru introducerea fluorescenței și a funcționalității fotodinamice. Concluziile finale și perspectivele integrează aceste relații structură–dispersie–funcție și identifică etapele necesare pentru validarea preclinică ulterioară și pentru translație în practică.

Cuvinte-cheie: nanoparticule magnetice, nanoparticule de oxid de fier, IRM, relaxometrie prin rezonanță magnetică, fantome care mimează țesutul, terapie fototermică în infraroșul apropiat, albumină serică bovină, curcumină, terapie fotodinamică, teranostică.

Cuprins

Partea I. IRM și nanoparticule magnetice: stadiul actual al cunoașterii

Capitolul 1. IRM în centrul imagisticii diagnostice avansate

- 1.1 IRM: principii, funcționalitate și direcții de dezvoltare
- 1.2 Nanoparticule magnetice în IRM: perspective actuale și direcții de optimizare
- 1.3 Evoluția nanoparticulelor magnetice în IRM clinică
- 1.4 Perspective pentru îmbunătățirea nanoparticulelor magnetice

Capitolul 2. Nanoparticule magnetice de nouă generație în IRM: de la cercetare la studii clinice

- 2.1 Imagistica inflamației
- 2.2 Imagistica infecției
- 2.3 Imagistica vasculară
- 2.4 Urmărirea celulară
- 2.5 Imagistica ganglionilor limfatici
- 2.6 Imagistica tumorală

Partea a II-a. Contribuții originale

Capitolul 3. Proiectarea și caracterizarea nanoparticulelor magnetice

- 3.1 Sinteza și caracterizarea fizico-chimică
- 3.2 Caracterizarea structurală și magnetică
- 3.3 Relaxometrie prin rezonanță magnetică

Capitolul 4. Aplicații biomedicale ale nanoparticulelor magnetice

- 4.1 Fantome care mimează țesutul și IRM
- 4.2 Răspuns fototermic indus de NIR

Capitolul 5. Ingineria suprafeței biocompatibile și funcționalizare

- 5.1 Optimizarea acoperirii cu BSA
- 5.2 Funcționalizarea cu curcumină

Capitolul 6. Aplicații biomedicale ale nanoparticulelor magnetice funcționalizate

- 6.1 IRM, RMN și stabilitate coloidală
- 6.2 Activitate fotodinamică și răspuns in vitro
- 6.3 Captare celulară și imagistica sferoizilor 3D

Concluzii finale și perspective

Referințe

Diseminare

Partea I. IRM și nanoparticule magnetice: stadiul actual al cunoașterii

Părți din Capitolele 1 și 2 au fost publicate în R. Lapusan, R. Borlan și M. Focsan, „Advancing MRI with magnetic nanoparticles: a comprehensive review of translational research and clinical trials,” Nanoscale Advances, 2024, 6, 2234–2259, DOI: 10.1039/D3NA01064C. Publicația a fost selectată pentru reprezentare pe coperta revistei.

Capitolul 1. IRM în centrul imagisticii diagnostice avansate

1.1 IRM: principii, funcționalitate și direcții de dezvoltare

IRM este o metodă imagistică neinvazivă bazată pe interacțiunea dintre nucleele de hidrogen, un câmp magnetic static și impulsurile de radiofrecvență. După excitație, sistemul protonic revine către starea de echilibru prin două procese principale de relaxare: T1, sau relaxare longitudinală/spin–rețea, și T2, sau relaxare transversală/spin–spin [3]. Proiectarea secvențelor exploatează aceste diferențe pentru a genera contrast tisular, iar mecanismele suplimentare de ponderare și achizițiile dedicate extind IRM către informații vasculare, funcționale, de difuzie și sensibile la susceptibilitate.

Agenții de contrast modifică în mod intenționat relaxarea în țesuturile în care se distribuie. Chelații de gadolinu sunt utilizați predominant pentru scurtarea T1 și pentru obținerea unei creșteri pozitive a semnalului, însă utilizarea lor clinică este limitată la anumite categorii de pacienți de preocupările legate de fibroza sistemică nefrogenică și de dovezile privind retenția tisulară a gadoliniului după administrări repetate [4], [5]. Aceste limitări au stimulat un interes reînnoit pentru alternative fără gadolinu, capabile să păstreze sensibilitatea diagnostică, oferind în același timp farmacocinetică și mecanisme magnetice distincte.

Nanoparticulele magnetice sunt atractive deoarece aceeași formulare poate influența relaxarea longitudinală și transversală într-un mod dependent de dimensiune, intensitatea câmpului și gradul de agregare. Miezu magnetic poate fi proiectat la scară nanometrică, iar suprafața poate fi modificată pentru a ajusta stabilitatea coloidală, interacțiunea biologică, timpul de circulație și țintirea moleculară. Astfel se creează un spațiu de proiectare considerabil mai larg decât cel al agenților de contrast convenționali cu molecule mici și se susține dezvoltarea unor platforme imagistice multifuncționale.

1.2 Nanoparticule magnetice în IRM: perspective actuale și direcții de optimizare

Nanoparticulele de oxid de fier utilizate în IRM sunt, în general, pe bază de magnetită (Fe_3O_4) sau maghemită ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), ambele putând prezenta răspunsuri magnetice intense la dimensiuni nanometrice și putând fi obținute în morfologii variate (Figura 1.1). Istoric, formulările au fost grupate în funcție de dimensiune în particule de ordin micrometric, nanoparticule superparamagnetice standard de oxid de fier și nanoparticule ultramici superparamagnetice de oxid de fier (USPIO), cele din urmă având de regulă dimensiuni de aproximativ 5–50 nm. Dimensiunea miezului, acoperirea și diametrul hidrodinamic sunt toate relevante, deoarece momentul magnetic și distanța dintre protonii apei și miezul magnetic determină efectul final asupra relaxării [7].

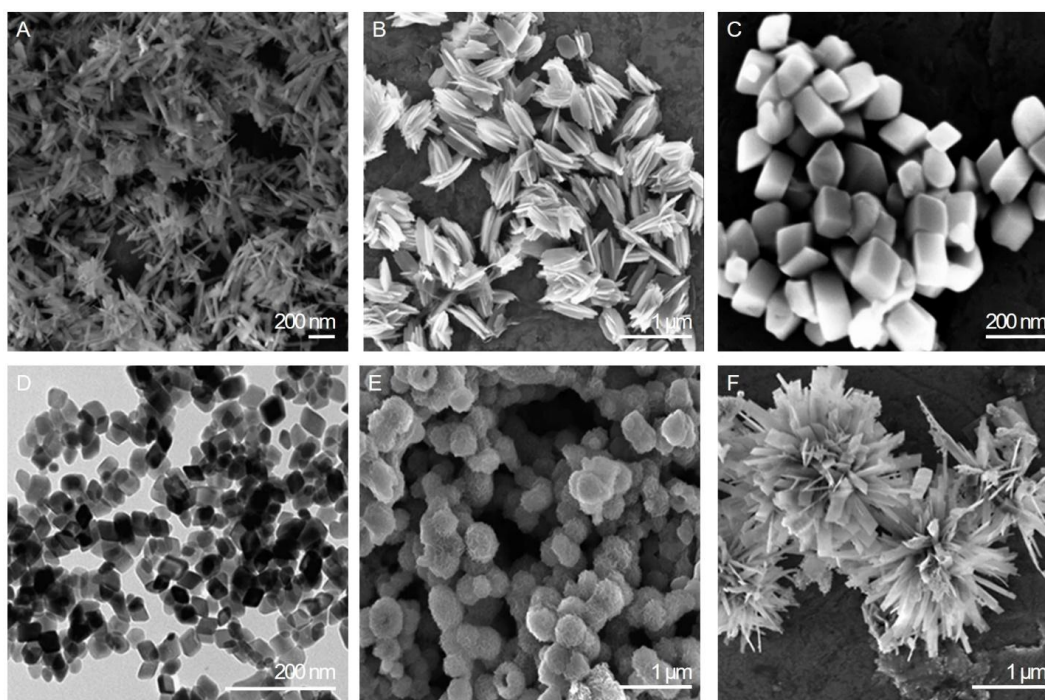


Figura 1.1 Imagini de microscopie electronică ale șase morfologii distincte de oxizi de fier: (A) nanobaghetete, (B) nanostructuri tip coajă, (C) cuburi deformate, (D) nanocuburi, (E) sfere poroase și (F) structuri florale auto-orientate. Reprodus din Referința [6] cu permisiune, în baza licenței Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0).

Particulele de oxid de fier mai mari sau agregate generează, de regulă, neomogenități locale pronunțate ale câmpului și, implicit, o scădere marcată a semnalului T_2/T_2^* , în timp ce miezurile foarte mici și bine dispersate pot produce o scurtare T_1 utilă. În consecință, clasificarea simplistă a nanoparticulelor de oxid de fier exclusiv drept agenți de contrast „negativi” este incompletă. Proiectarea modernă se concentrează tot mai mult pe formulări ultramici și bine controlate, capabile să treacă de

la un comportament dominant T1 la unul dominant T2 în funcție de concentrație, intensitatea câmpului, acoperire și starea de agregare.

1.3 Evoluția nanoparticulelor magnetice în IRM clinică

Translația clinică a agenților de contrast pe bază de oxid de fier a avut o evoluție discontinuă. Ferumoxidul și ferucarbotranul au fost dezvoltate pentru IRM hepatică, exploatând captarea de către sistemul fagocitar mononuclear pentru a reduce semnalul țesutului reticuloendotelial normal pe imaginile ponderate T2, în timp ce leziunile cu un conținut redus de macrofage rămâneau relativ hiperintense [8], [9]. Mai mulți agenți dezvoltați anterior au fost ulterior retrași sau au devenit disponibili limitat din motive comerciale, practice sau diagnostice, și nu pentru că principiul magnetic de bază și-ar fi pierdut relevanța biologică.

Ferumoxytolul, o formulare ultramică de oxid de fier dezvoltată pentru substituția intravenoasă a fierului, a devenit ulterior importantă ca agent IRM utilizat în afara indicațiilor aprobate (off-label). Timpul său lung de rezidență intravasculară susține imagistica intravasculară de tip blood-pool și imagistica vasculară și este deosebit de valoros atunci când administrarea convențională de gadolinu nu este de dorit [10]. În același timp, circulația prelungită și captarea de către macrofage permit imagistica tardivă a proceselor inflamatorii și neoplazice. Aceste proprietăți ilustrează atât versatilitatea USPIO, cât și necesitatea corelării momentului achiziției și a designului secvențelor cu farmacocinetica nanoparticulelor.

1.4 Perspective pentru îmbunătățirea nanoparticulelor magnetice

Viitorii agenți IRM pe bază de oxid de fier trebuie să echilibreze mai multe cerințe concurente: un miez magnetic suficient de mic pentru un comportament relaxometric favorabil, o suprafață care să prevină agregarea necontrolată în mediile biologice, o cinetică adecvată a circulației și eliminării și posibilitatea introducerii unor grupări funcționale fără compromiterea performanței magnetice. Polietilenglicolul, dextranul, poli(alcoolul vinilic), chitosanul, albumina și alte acoperiri au fost investigate pentru controlul acestor proprietăți. În cazul sistemelor ultramici, dimensiunea hidrodinamică efectivă poate fi determinată în aceeași măsură de coroana proteică și de asocierea interparticulară ca de miezul anorganic propriu-zis.

Această provocare de proiectare motivează direct componenta experimentală a tezei: sunt necesare relații cantitative structură–dispersie–relaxare înainte ca o

nanoparticulă să poată fi avansată rațional către utilizarea biologică. Prin urmare, lucrarea tratează agregarea nu ca pe un inconvenient secundar, ci ca pe o variabilă centrală care leagă caracterizarea fizico-chimică de performanța IRM și fototermică.

Capitolul 2. Nanoparticule magnetice de nouă generație în IRM: de la cercetare la studii clinice

Valoarea clinică a nanoparticulelor magnetice depășește contrastul convențional de organ. Captarea de către macrofage, persistența intravasculară prelungită (blood-pool), efectele de susceptibilitate și posibilitatea funcționalizării suprafeței au generat aplicații în imagistica inflamației, infecției, patologiei vasculare, urmărirea celulară, stadializarea ganglionară și imagistica tumorală. Literatura translațională este foarte heterogenă: performanța depinde de miezul și acoperirea particulei, doza administrată, intensitatea câmpului magnetic, designul secvenței și intervalul dintre injectare și achiziția imaginilor. Din acest motiv, Capitolul 2 analizează aplicațiile împreună cu parametrii de material și de imagistică ce le determină interpretarea.

2.1 Imagistica inflamației

IRM cu contrast USPIO poate vizualiza procesele inflamatorii deoarece nanoparticulele circulante sunt internalizate de celulele sistemului fagocitar mononuclear și se acumulează în țesuturile bogate în macrofage. Acest mecanism a fost investigat în ateroscleroză, scleroză multiplă, accident vascular cerebral ischemic, inflamație renală și alte afecțiuni inflamatorii [11]. În bolile vasculare, captarea oxidului de fier a fost utilizată ca marker imagistic surogat al inflamației plăcii aterosclerotice [12]; în neuroinflamație, semnalul tardiv USPIO poate furniza informații complementare captării gadoliniului, deoarece reflectă infiltrarea celulară și nu doar alterarea barierei hemato-encefalice [13], așa cum este ilustrat în accidentul vascular cerebral ischemic (Figura 2.1).

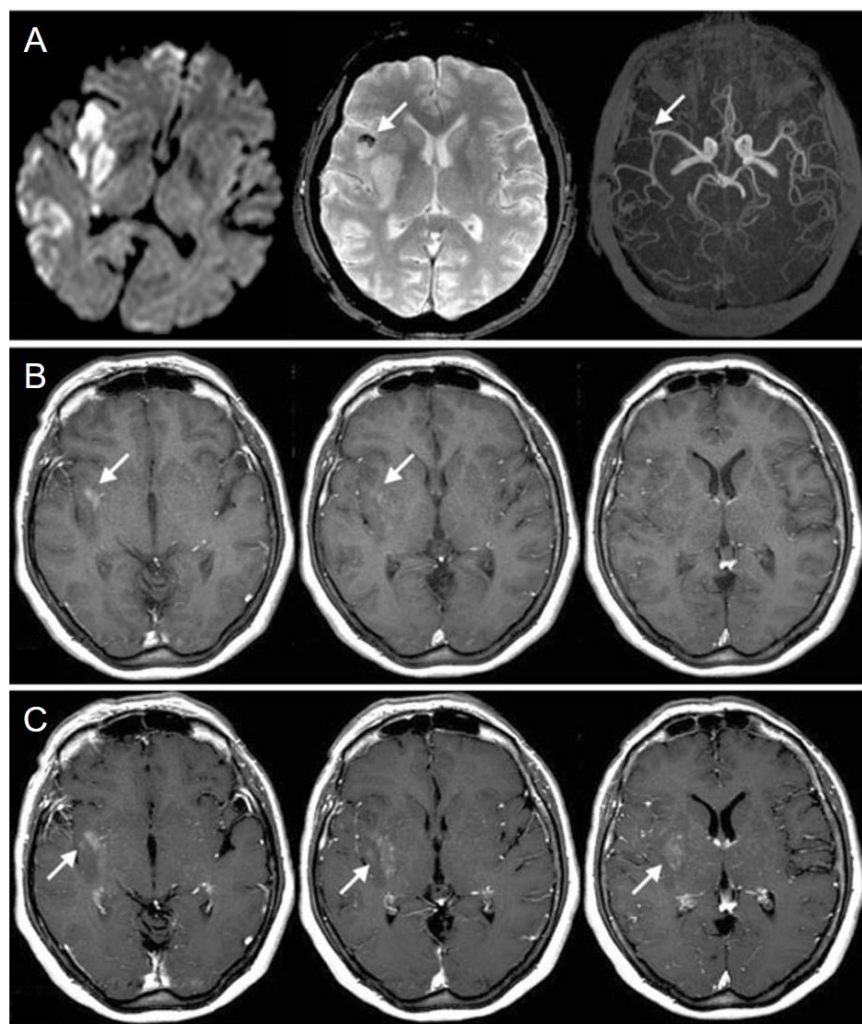


Figura 2.1 Comparație între imaginile IRM obținute în a doua zi înainte de administrarea USPIO (pre-USPIO) și în a patra zi după administrare (post-USPIO) la un pacient cu infarct în teritoriul arterei cerebrale medii drepte. (A) De la stânga la dreapta: imagini ponderate în difuzie (DWI), imagini ponderate T2* (T2*WI) și angiografie RM time-of-flight (TOF MRA) pre-USPIO, evidențiind ocluzia unei ramuri insulare (săgeți); trombul apare în hiposemnal pe T2*WI (săgeată). (B) Imagini ponderate T1 pre-gadoliniu, evidențiind o accentuare focală a semnalului în regiunea infarctului, atribuită USPIO (săgeți). (C) Imagini ponderate T1 post-gadoliniu, evidențiind alterarea barierei hematoencefalice, cu extindere dincolo de zona de accentuare asociată USPIO (săgeți). Reprodus din Referința [6] cu permisiune, în baza licenței Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0).

2.2 Imagistica infecției

Imagistica infecției exploatează un mecanism similar, mediat de macrofage. Particulele de oxid de fier au fost investigate în modele experimentale de osteomielită, artrită septică și în alte localizări în care recrutarea celulelor inflamatorii însoțește infecția. Principala limitare este specificitatea: captarea nanoparticulelor reflectă răspunsul inflamator celular și nu poate diferenția singură inflamația sterilă de infecție. Cu toate acestea, IRM serială cu contrast pe bază de oxid de fier poate furniza informații cu rezoluție spațială privind răspunsul la tratament și încărcătura inflamatorie, fără utilizarea radiațiilor ionizante.

2.3 Imagistica vasculară

Timpul de înjumătățire intravascular prelungit al nanoparticulelor ultramici de oxid de fier le transformă în agenți eficienți de contrast de tip blood-pool pentru angiografia prin rezonanță magnetică (ARM). Ferumoxytolul, în special, poate oferi o fereastră de achiziție extinsă comparativ cu tehnicile de prim pasaj cu gadoliniu și a fost investigat pentru imagistica vasculară coronariană, aortică, renală și periferică, inclusiv pentru ARM coronariană (Figura 2.2). Abordările bazate pe susceptibilitate pot utiliza, de asemenea, particulele de oxid de fier pentru cuantificarea volumului sanguin cerebral și vizualizarea vaselor mici [14]. Aceste aplicații sunt deosebit de relevante la pacienții care necesită examinări repetate sau la care expunerea la gadoliniu nu este de dorit.

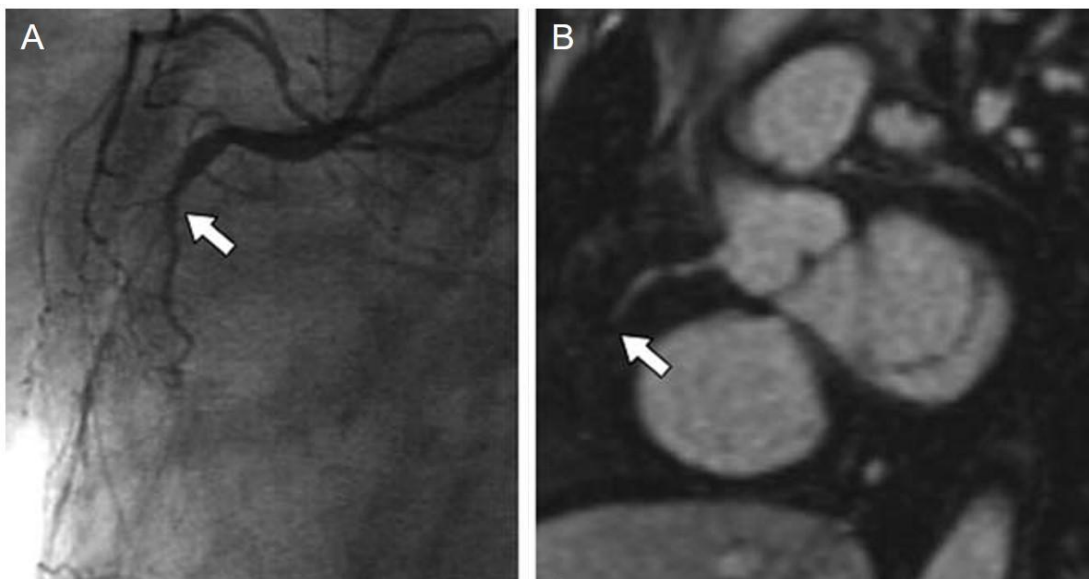


Figura 2.2 Identificarea bolii coronariene prin angiografie coronariană RM cu contrast după injectarea a 20 mmol Fe/kg VSOP-C184. (A) Angiografia coronariană invazivă a confirmat prezența unei ocluzii în segmentul mijlociu al arterei coronare drepte (săgeată). (B) Angiografia coronariană RM cu contrast vizualizează distinct această ocluzie (săgeată). Reprodus din Referința [6] cu permisiune, în baza licenței Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0).

2.4 Urmărirea celulară

Marcarea magnetică poate transforma celulele terapeutice sau experimentale în sonde detectabile prin IRM. Celulele stem mezenchimale și alte populații celulare pot fi încărcate ex vivo cu oxid de fier și urmărite ulterior după transplant, permițând evaluarea neinvazivă a localizării și migrării [15]. Metoda a fost utilizată în medicina regenerativă și oncologie, însă interpretarea necesită precauție deoarece persistența marcajului poate depăși viabilitatea celulară, iar fierul poate fi ulterior transferat către fagocitele gazdei. Astfel, urmărirea celulară demonstrează sensibilitatea IRM la

susceptibilitatea asociată nanoparticulelor, subliniind în același timp importanța validării biologice.

2.5 Imagistica ganglionilor limfatici

Imagistica ganglionilor limfatici reprezintă una dintre cele mai convingătoare aplicații clinice ale USPIO. După administrarea sistemică, nanoparticulele sunt transportate către și internalizate de macrofagele din țesutul limfatic normal, producând scăderea semnalului T2/T2*. Înlocuirea metastatică reduce captarea normală de către macrofage și poate determina, prin urmare, păstrarea relativă a semnalului (Figura 2.3). Ferumoxtranul și formulări similare au fost investigate pentru stadializarea ganglionară în neoplaziile pelvine, cancerul de prostată și alte malignități [16], iar administrarea locală de SPIO a fost explorată și pentru cartografierea ganglionului sentinelă. Aceste abordări oferă o completare funcțională a criteriilor ganglionare bazate pe dimensiune [17].

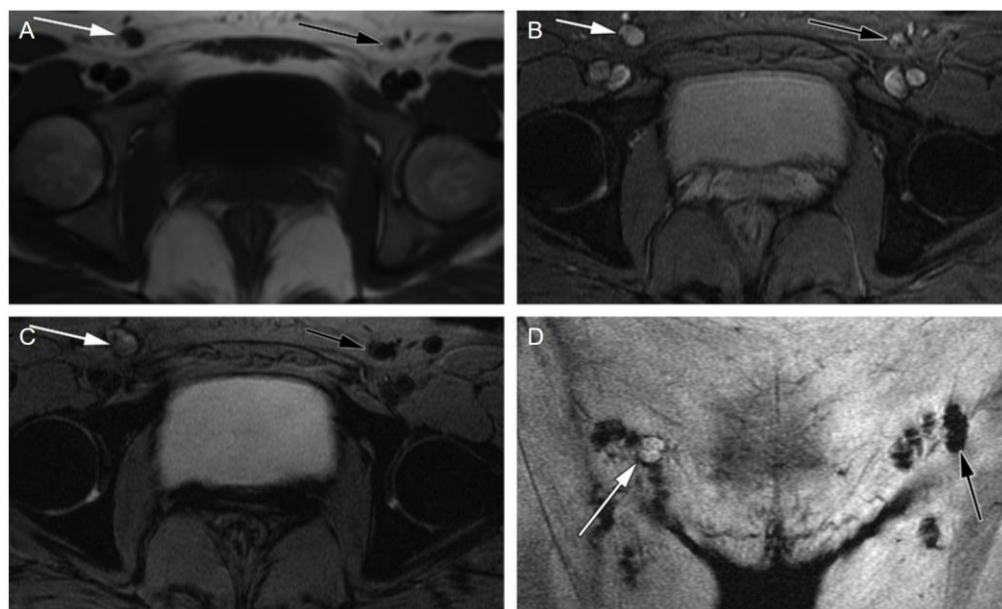


Figura 2.3 Caz de ganglion inghinal malign la o pacientă de 47 de ani cu cancer vulvar. Imaginea axială GRE ponderată T1 precontrast (A) evidențiază o mărire la limită a ganglionului inghinal drept (săgeată albă) comparativ cu ganglionul inghinal stâng (săgeată neagră). Pe imaginea axială GRE ponderată T2* precontrast (B), ambii ganglioni inghinali (săgeți) apar hiperintens. După administrarea contrastului, imaginea axială GRE ponderată T2* postcontrast (C) arată că ganglionul inghinal drept (săgeată albă) rămâne hiperintens, în timp ce ganglionul stâng devine hipointens (săgeată neagră). Imaginea coronală GRE ponderată T2* postcontrast (D) furnizează, suplimentar, informații utile pentru planificarea chirurgicală, ilustrând raportul ganglionilor cu pliul inghinal. Aceste caracteristici imagistice indică un ganglion inghinal drept malign la limfografia RM, diagnostic confirmat ulterior histologic, în timp ce ganglionul stâng s-a dovedit benign. Doza recomandată de USPIO, 2,6 mg/kg, este diluată în 100 mL ser fiziologic și perfuzată în 30 de minute. Reprodus din Referința [6] cu permisiune, în baza licenței Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0).

2.6 Imagistica tumorală

Imagistica tumorală cu SPION și USPIO se bazează pe trei mecanisme principale: captarea de către sistemul fagocitar mononuclear, acumularea pasivă asociată vascularizației tumorale anormale și efectului de permeabilitate și retenție crescută, precum și țintirea activă după conjugarea suprafeței particulelor cu liganzi pentru receptori asociați tumorii [18]–[23]. Contribuția fiecărui mecanism depinde de tipul tumorii și de formulare, iar efectul EPR, în special, este heterogen în patologia umană.

Particulele ultrafine pot prezenta un contrast care evoluează în timp. Particulele mai mici de aproximativ 5 nm pot produce inițial o creștere a semnalului T1 vascular sau perivascular, iar ulterior pot deveni predominant T2 după agregarea în microambientul tumoral [24]. La nivel hepatic, captarea oxidului de fier de către celulele Kupffer a permis istoric diferențierea dintre parenchimul hepatic reticuloendotelial și leziunile cu activitate fagocitară redusă (Figura 2.4) [8], [9]. La nivel cerebral, extravazarea mai redusă a ferumoxytolului comparativ cu chelații mici de gadoliniu poate îmbunătăți măsurarea volumului sanguin și poate contribui la diferențierea vascularizației tumorale de permeabilitatea barierei hemato-encefalice [25], [26].

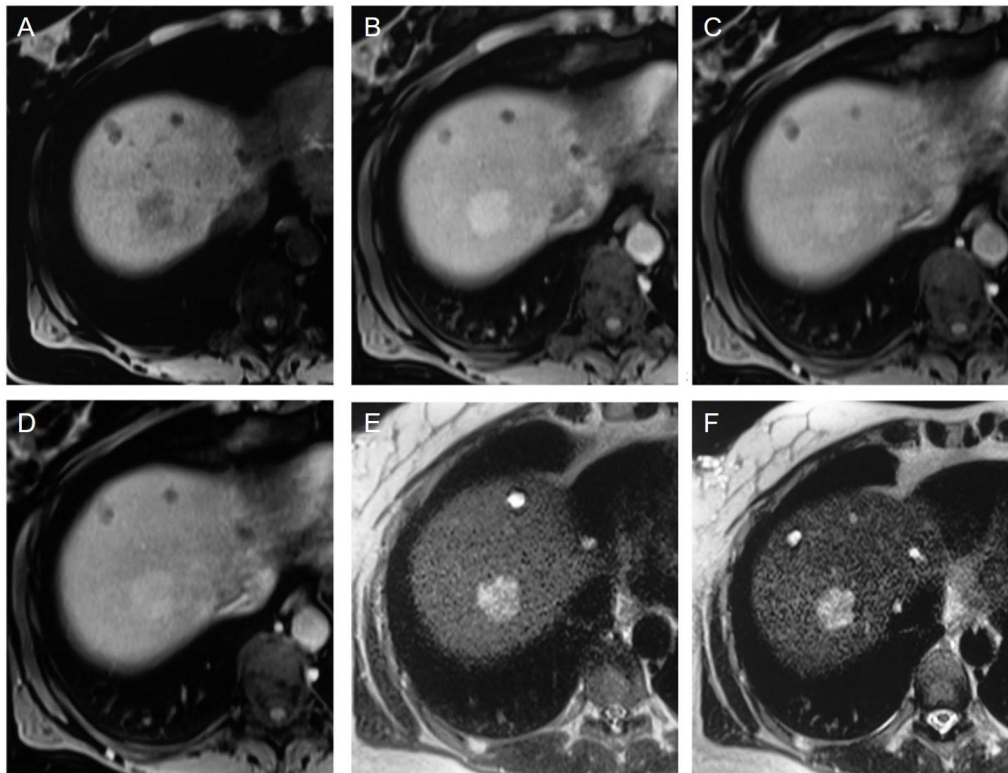


Figura 2.4 (A–F) Exemple imagistice de adenom hepatic. Pe imaginea VIBE ponderată T1 nativă (A) se evidențiază un nodul cu hiposemnal heterogen comparativ cu parenchimul lobului hepatic drept din jur. După administrarea lentă în bolus a Resovist, nodulul prezintă priză de contrast în faza arterială (B), fără wash-out semnificativ în faza venoasă portală (C) și în faza de echilibru (D). Pe secvența HASTE ponderată T2 nativă (E), leziunea apare hiperintensă față

de parenchimul hepatic, fără modificări semnificative la evaluarea vizuală pe achiziția realizată la 10 minute după administrarea contrastului (F). Analiza cantitativă evidențiază însă o scădere cu 33% a semnalului nodulului, care rămâne totuși hiperintens datorită unei scăderi de 53% a semnalului parenchimului din jur. Este important de menționat că toate imaginile (A–F) evidențiază mici chisturi în regiunea anterioară a parenchimului hepatic. Reprodus din Referința [6] cu permisiune, în baza licenței Creative Commons Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0).

Cercetările actuale extind aceste principii prin țintire activă, compoziții hibride și proiectare teranostică. Țintele investigate includ receptori și antigene relevanți pentru tumorile mamare, prostatice, ovariene, pulmonare și cerebrale, iar studiile clinice și preclinice continuă să exploreze aplicații precum caracterizarea tumorilor hepatice, infiltrarea glioblastomului și stadializarea cancerului vezical [27]–[36]. În ansamblu, literatura susține nanoparticulele de oxid de fier ca platformă IRM flexibilă, demonstrând totodată că translația reușită necesită un control riguros al dimensiunii, chimiei suprafeței, stabilității coloidale și destinului biologic.

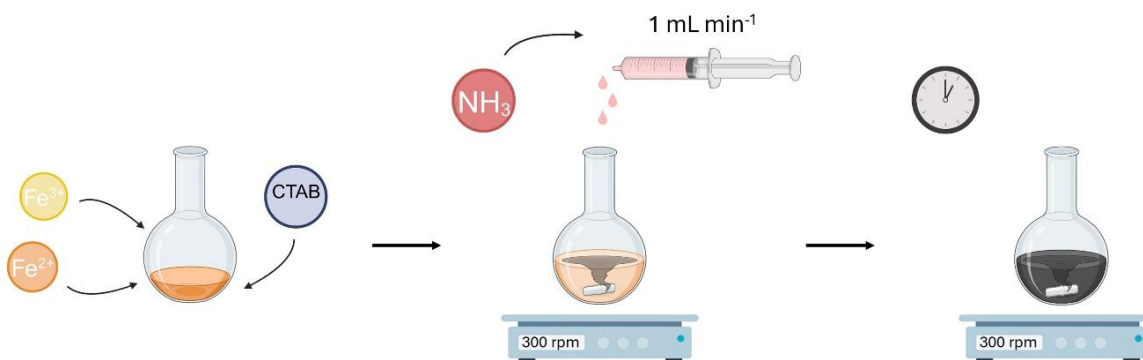
Partea a II-a. Contribuții originale

Capitolul 3. Proiectarea și caracterizarea nanoparticulelor magnetice

Componenta experimentală începe cu sinteza și caracterizarea cantitativă a unui miez ultramic de magnetită, conceput pentru a oferi o bază reproductibilă tuturor studiilor ulterioare de IRM și terapie. Cerința centrală nu a fost doar obținerea unor nanoparticule mici de Fe_3O_4 , ci stabilirea modului în care dimensiunea primară, cristalinitatea, proprietățile magnetice și starea de dispersie modifică răspunsul magnetic efectiv în apă, medii cu ser și matrici care mimează țesutul.

3.1 Sinteza și caracterizarea fizico-chimică

Nanoparticulele magnetice au fost sintetizate printr-o metodă modificată de coprecipitare, utilizând săruri de Fe(II) și Fe(III) într-un raport masic de 4:5, în prezența bromurii de cetiltrimetilamoniu (CTAB) (Schema 3.1). Soluția precursorilor a fost agitată la temperatura camerei, iar hidroxidul de amoniu a fost adăugat picătură cu picătură, cu un debit controlat de 1 mL min^{-1} . Tranziția culorii de la portocaliu închis la negru a indicat formarea oxidului de fier. Dispersia rezultată a fost centrifugată repetat la $3400 \times g$ timp de 10 min și spălată pentru îndepărtarea componentelor reziduale ale reacției. Reproducibilitatea și randamentul sintezei au fost evaluate utilizând patru loturi independente.



Schema 3.1 Reprezentare schematică a metodei de sinteză a nanoparticulelor magnetice.

Microscopia electronică de transmisie (TEM) a fost utilizată pentru determinarea morfologiei și dimensiunii primare a particulelor, iar împrăștierea dinamică a luminii (DLS) și măsurătorile potențialului zeta au caracterizat comportamentul coloidal. Din imaginile TEM au fost măsurate peste 1600 de nanoparticule, utilizând diametrul Feret

minim. Diametrul mediu rezultat a fost de $9,23 \pm 2,97$ nm, majoritatea particulelor având dimensiuni între aproximativ 5 și 25 nm (Figura 3.1). Potențialul zeta în apă a fost de $+31,6 \pm 1,8$ mV, indicând o suprafață a particulelor puternic încărcată. Randamentul mediu al sintezei, calculat pentru patru loturi, a fost de $52,83 \pm 9,20\%$.

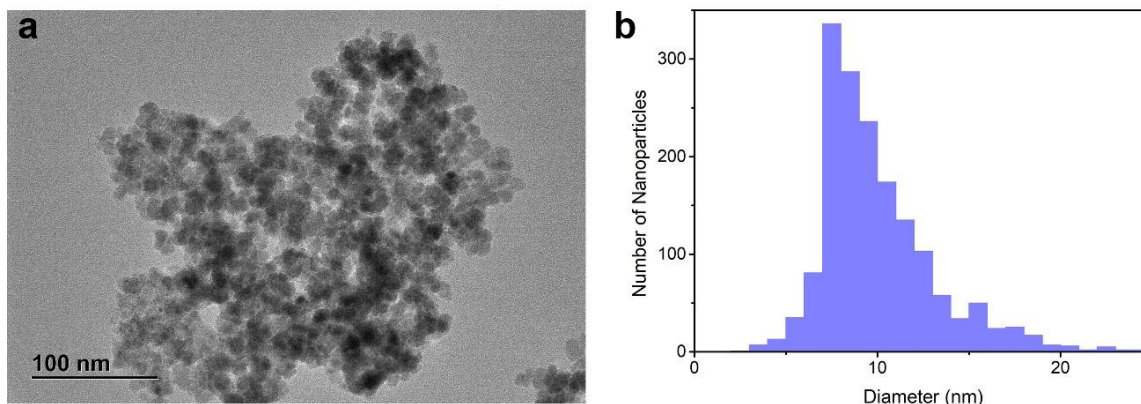


Figura 3.1 (a) Imagine TEM a nanoparticulelor magnetice, cu bară de scară de 100 nm. (b) Histograma distribuției dimensionale a particulelor, măsurată prin diametrul Feret minim.

Distincția dintre dimensiunea primară a particulei și dimensiunea hidrodinamică s-a dovedit esențială. În apă ultrapură, DLS a evidențiat o asociere marcată și dependentă de concentrație: la $1,8 \mu\text{M}$ Fe_3O_4 , populația hidrodinamică dominantă a fost de 1207 ± 73 nm; la $0,6 \mu\text{M}$ au fost identificate populații de 788 ± 88 nm (85%) și 260 ± 127 nm (15%); iar la $0,06 \mu\text{M}$ populația dominantă a scăzut la 351 ± 65 nm. Aceste dimensiuni sunt mult mai mari decât diametrul TEM și demonstrează că miezurile ultramici formează agregate în dispersie apoasă.

Atunci când nanoparticulele au fost dispersate în ser fetal bovin (FBS), distribuția hidrodinamică s-a modificat substanțial comparativ cu dispersiile în apă (Figura 3.2). La $1,8 \mu\text{M}$, dimensiunea dominantă a fost de 508 ± 47 nm, în timp ce proba de $0,6 \mu\text{M}$ a prezentat populații centrate la 503 ± 125 nm, 41 ± 6 nm și 6 ± 1 nm. La $0,06 \mu\text{M}$, o fracțiune importantă a populației a fost detectată la 36 ± 1 nm, împreună cu populații mai mari și ultramici. Aceste rezultate susțin rolul stabilizator al proteinelor serice adsorbite și subliniază faptul că mediul biologic poate reduce sau reorganiza agregarea magnetică, fără a reproduce pur și simplu comportamentul măsurat în apă pură.

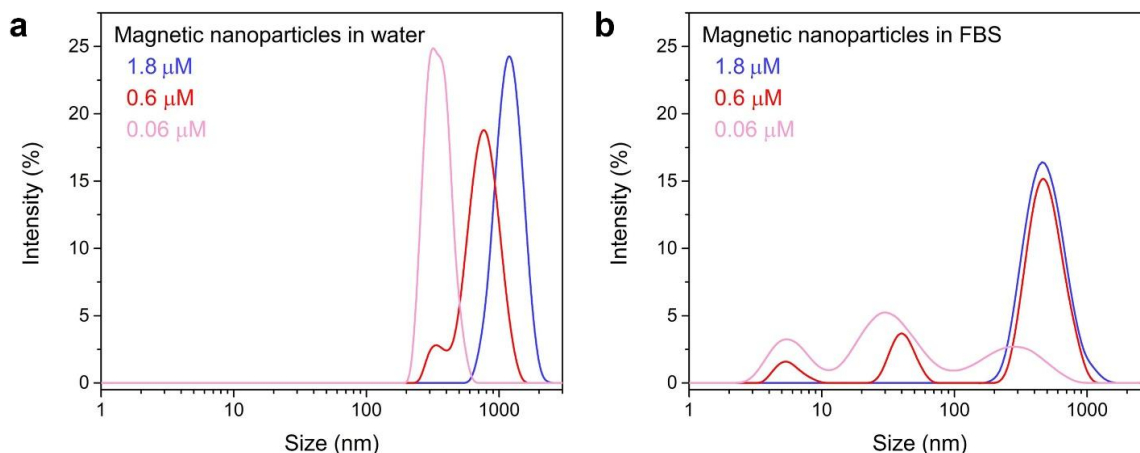


Figura 3.2 Distribuțiile dimensionale DLS ale nanoparticulelor magnetice dispersate în (a) apă ultrapură și (b) FBS, la trei concentrații diferite: 1,8 μM (albastru), 0,6 μM (roșu) și 0,06 μM (roz).

Tabelul 3.1. Sinteza principalilor parametri structurali, magnetici și coloidali măsurați pentru nanoparticulele ultramici de Fe_3O_4 sintetizate.

Parametru	Rezultat
Diametru TEM	$9,23 \pm 2,97 \text{ nm}$
Dimensiunea cristalitelor XRD	$10,3 \pm 2 \text{ nm}$
Potențial zeta în apă	$+31,6 \pm 1,8 \text{ mV}$
Magnetizare de saturație, Ms	$52,4 \text{ emu/g}$
Randament mediu al sintezei	$52,83 \pm 9,20\%$

3.2 Caracterizarea structurală și magnetică

Difracția de raze X a identificat o singură fază cubică de tip spinel a oxidului de fier, compatibilă cu Fe_3O_4 . Dimensiunea cristalitelor, calculată din lărgirea picurilor de difracție, a fost de $10,3 \pm 2 \text{ nm}$. Concordanța strânsă dintre dimensiunea cristalitelor determinată prin XRD și diametrul particulelor măsurat prin TEM susține concluzia că nanoparticulele sunt predominant monocristaline, și nu agregate policristaline formate din domenii mai mici.

Magnetometria cu probă vibrantă a evidențiat o magnetizare de saturație de aproximativ $52,4 \text{ emu/g}$ (Figura 3.3b), completând caracterizarea prin XRD a fazei Fe_3O_4 prezentată în Figura 3.3a. Curba de histerezis nu a avut un comportament superparamagnetic ideal, prezentând remanență și coercitivitate reziduale, atribuite în principal interacțiunilor dipolare interparticulare și agregării [37]. Acest rezultat a consolidat suplimentar necesitatea interpretării proprietăților magnetice împreună cu

starea de dispersie: chiar și un miez nominal ultramic poate dezvolta un comportament magnetic colectiv atunci când particulele se asociază în structuri mai mari.

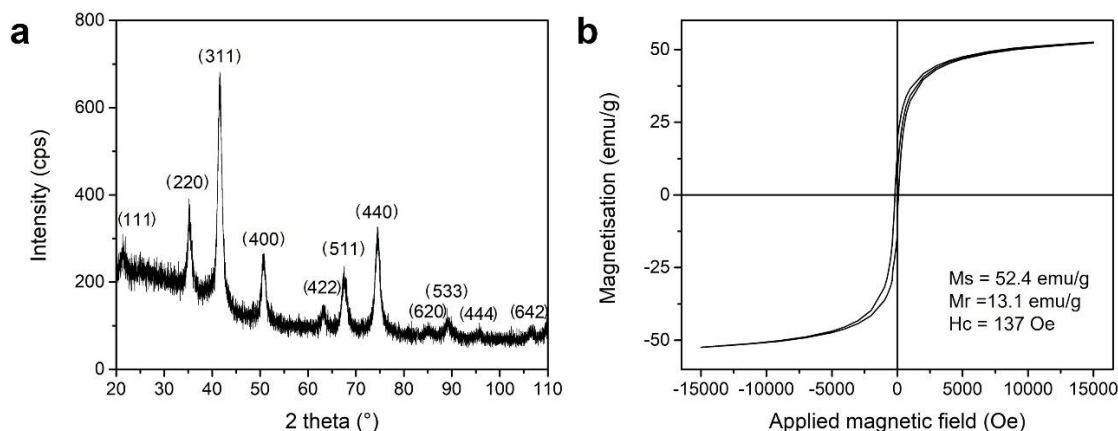


Figura 3.3 Caracterizarea structurală și magnetică a nanoparticulelor de Fe_3O_4 . (a) Difractograma XRD și (b) curba de magnetizare a pulberilor obținute.

3.3 Relaxometrie prin rezonanță magnetică

Relaxometria prin rezonanță magnetică la câmp redus a fost efectuată la 0,5 T (20 MHz), utilizând o achiziție CPMG și analiza prin transformata Laplace inversă a distribuțiilor T2. Dispersiile de nanoparticule au fost comparate cu Gadovist într-un interval de concentrații. Controlul reprezentat de apă a prezentat un T2 lung, de aproximativ 2,56 s, în timp ce adăugarea nanoparticulelor magnetice a scurtat relaxarea transversală într-un mod clar dependent de concentrație. La creșterea concentrației nanoparticulelor, distribuțiile T2 au devenit mai largi și au apărut mai multe componente, în concordanță cu existența unor stări de agregare heterogene.

La concentrații reduse, nanoparticulele ultramici de oxid de fier au produs modificări de relaxare competitive cu referința pe bază de gadoliniu, în timp ce, la concentrații mai mari, agregarea lor în apă pură a determinat un răspuns mai pronunțat, dominant T2 (Figura 3.4). Repetarea măsurătorilor în fantome pe bază de agaroză a redus libertatea de mișcare a particulelor și a modificat profilul de relaxare, oferind un mediu mai apropiat de țesut decât dispersiile apoase simple (Figura 3.5).

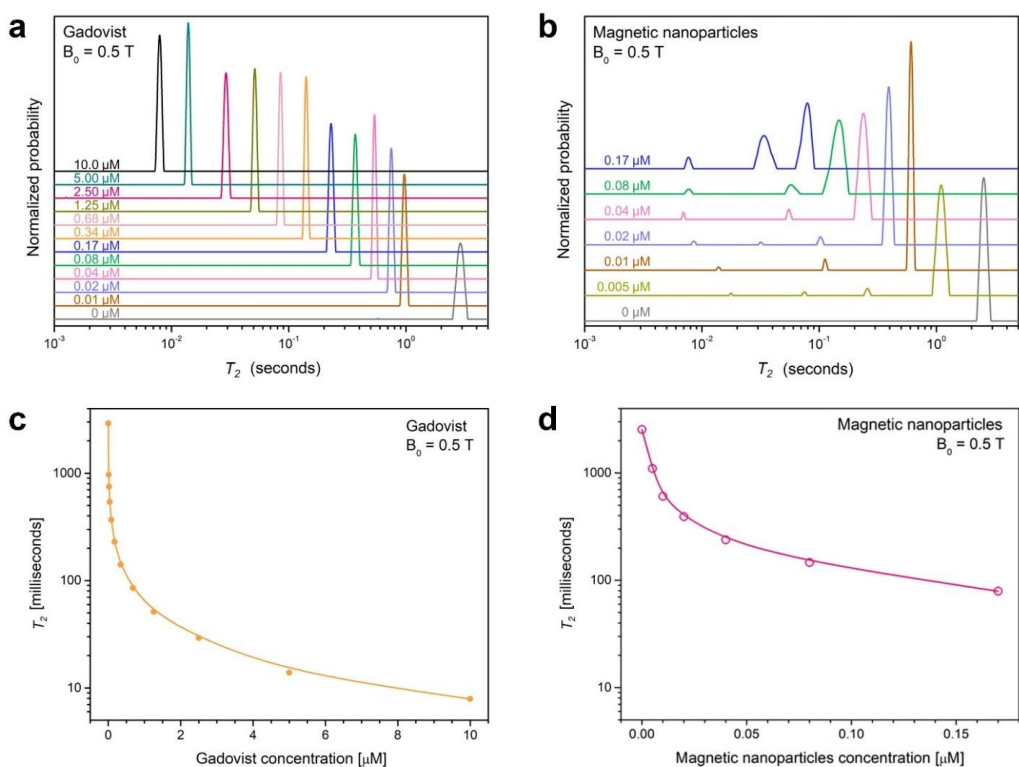


Figura 3.4 Distribuțiile timpului de relaxare transversală T₂, măsurate pentru soluții apoase cu concentrații diferite de (a) Gadovist și (b) nanoparticule magnetice, precum și curba de scădere a valorii pic-ului principal în funcție de concentrația (c) Gadovist și (d) a nanoparticulelor magnetice.

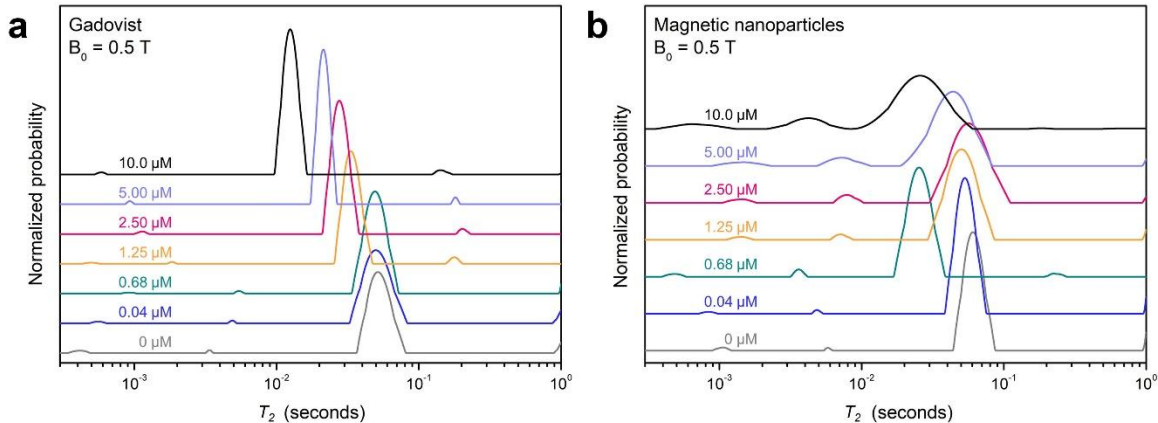


Figura 3.5 Distribuțiile timpului de relaxare transversală T₂, măsurate pentru diferite fantome de agaroză cu concentrații diferite de (a) Gadovist și (b) nanoparticule magnetice.

Concluzia principală a Capitolului 3 este, așadar, că miezurile de Fe₃O₄ sintetizate sunt reproductibile, ultramici și predominant monocristaline, însă comportamentul lor magnetic efectiv depinde puternic de mediu. Dimensiunile miezului de aproximativ 9–10 nm, magnetizarea de saturație de 52,4 emu/g și efectele relaxometrice pronunțate, dependente de concentrație, au stabilit baza platformei pentru studiile IRM la câmp înalt și NIR dezvoltate în Capitolul 4.

Capitolul 4. Aplicații biomedicale ale nanoparticulelor magnetice

Capitolul 4 transpune rezultatele fizico-chimice în două evaluări la nivel aplicativ: IRM la intensități de câmp preclinice și clinice și încălzire fototermică declanșată de NIR. O caracteristică centrală a designului experimental este utilizarea fantomelor pe bază de agaroză care mimează țesutul, și nu doar a dispersiilor de particule, ceea ce permite evaluarea performanței magnetice și termice într-o matrice care limitează mobilitatea particulelor și aproximează mai bine condițiile tisulare.

4.1 Fantome care mimează țesutul și IRM

Fantomele de agaroză au fost preparate utilizând un raport agaroză:apă de aproximativ 1:25, iar în anumite experimente s-a adăugat Intralipid pentru introducerea împrăștierii optice. În matrici au fost încorporate concentrații de Fe_3O_4 cuprinse între 0,1 și 27,6 μM . Examinările IRM au fost efectuate atât la 11,7 T, reprezentativ pentru imagistica preclinică la câmp înalt, cât și pe un sistem clinic Siemens Magnetom Altea de 1,5 T. Protocolul clinic a inclus imagini turbo spin-echo ponderate T1 (TR 2000 ms, TE 11 ms) și imagini turbo spin-echo ponderate T2 (TR 10.000 ms, TE 111 ms).

La 11,7 T, fantoma de agaroză de control a avut un T1 măsurat de 2,459 s. Încorporarea unei concentrații de doar 0,1 μM nanoparticule magnetice a redus T1 la 1,47 s, iar 3,5 μM l-a redus suplimentar la 0,71 s (Figura 4.1). Relaxarea transversală s-a modificat și mai pronunțat: T2 a scăzut de la 38,7 ms în control la 12,79 ms la 0,1 μM și la 4,09 ms la 3,5 μM (Figura 4.2). La concentrația mai mare, însă, densitatea protonică aparentă a fost substanțial redusă, ilustrând tranziția către o pierdere intensă de semnal determinată de susceptibilitate.

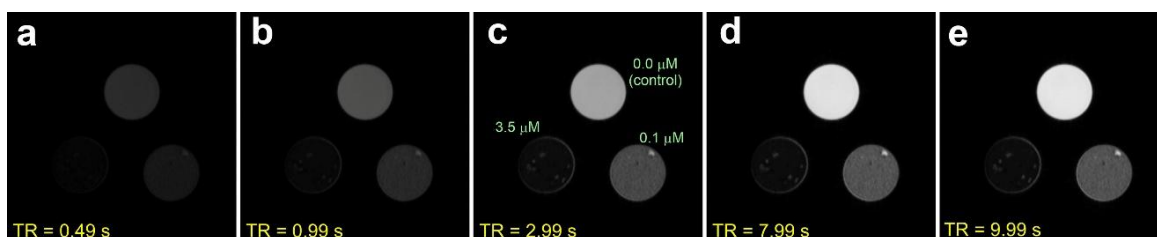


Figura 4.1 Imagine IRM obținută la inducția câmpului magnetic de 11,7 T pentru trei fantome de agaroză cu concentrații de nanoparticule magnetice de 0 μM (control), 0,1 μM și 3,5 μM , cu timp de ecou TE = 6 ms și timpi de repetiție diferiți (timp pentru remagnetizare): (a) TR = 0,49 s; (b) TR = 0,99 s; (c) TR = 2,99 s; (d) TR = 7,99 s și (e) TR = 9,99 s, pentru explorarea timpului de relaxare longitudinală T1.

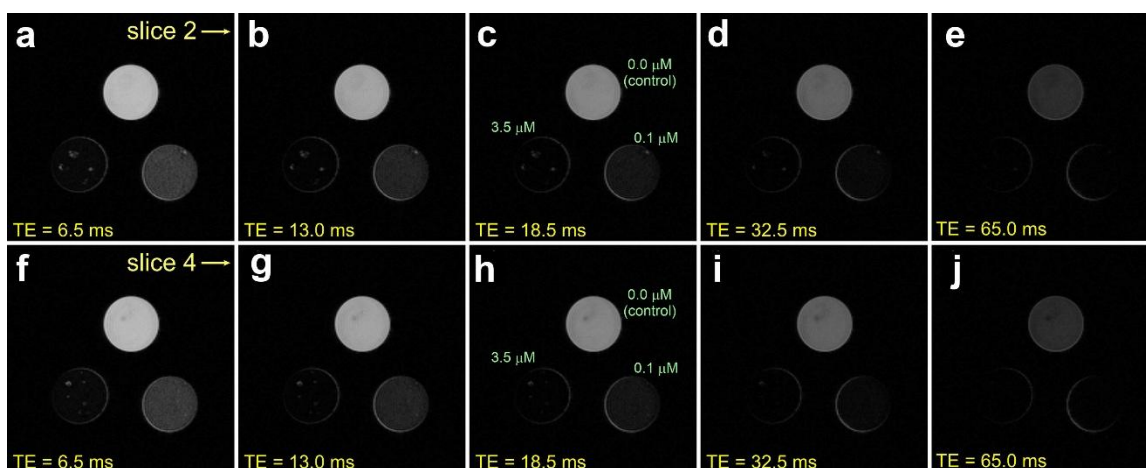


Figura 4.2 Imagine IRM obținută la inducția câmpului magnetic de 11,7 T pentru trei fantome de agaroză cu concentrații de nanoparticule magnetice de 0 μM (control), 0,1 μM și 3,5 μM , cu un timp de repetiție $TR = 2,6$ s și timpi de eco diferiți: (a) și (f) $TR = 0,49$ s; (b) și (g) $TR = 0,99$ s; (c) și (h) $TR = 2,99$ s; (d) și (i) $TR = 7,99$ s și (e) și (j) $TR = 9,99$ s, pentru explorarea timpului de relaxare transversală T2.

Imagistica clinică la 1,5 T a confirmat că mecanismul de contrast este dependent de concentrație. Concentrațiile mari de nanoparticule (aproximativ 1,25–10 μM) au generat o scădere marcată a semnalului, în concordanță cu agregarea și efectele de susceptibilitate dominante T2. La concentrații intermediare și mici, inclusiv aproximativ 0,17, 0,08 și 0,02 μM , creșterea pozitivă a semnalului pe imaginile ponderate T1 a devenit comparabilă cu cea produsă de Gadovist în același mediu de fantomă (Figura 4.3). Modificările semnalului T2 au rămas detectabile chiar la concentrații de aproximativ 0,01–0,08 μM (Figura 4.4). Prin urmare, aceeași formulare ultramică de Fe_3O_4 poate funcționa ca agent cu efect T1 la concentrații reduse și ca agent predominant T2 pe măsură ce concentrația și agregarea cresc.

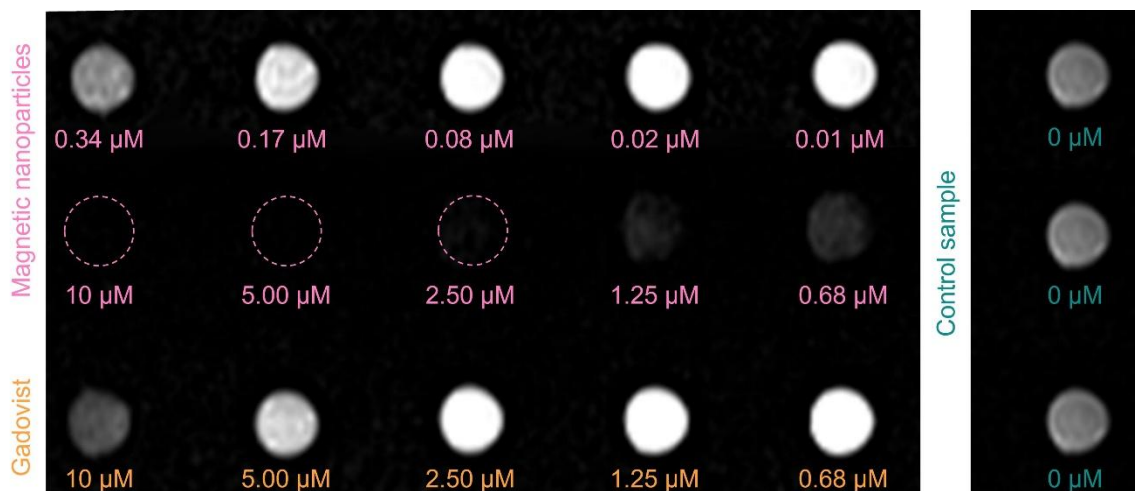


Figura 4.3 Comparația modificării semnalului ponderat T1 înregistrat la 1,5 T între nanoparticulele magnetice (rândurile superior și mijlociu, cu concentrațiile exprimate ca molaritate a nanoparticulelor) și Gadovist (rândul inferior), încorporate în fantome pe bază de agaroză la concentrații variabile. Ultima coloană reprezintă proba de control.

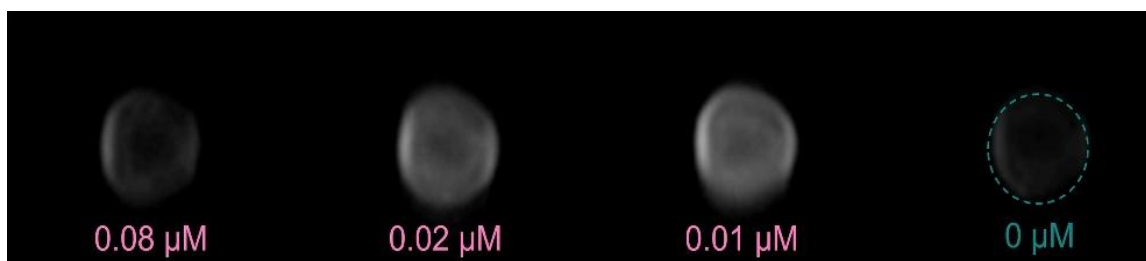


Figura 4.4 Comparația modificării semnalului ponderat T2 înregistrat la 1,5 T între diferite concentrații de nanoparticule magnetice încorporate în fantome pe bază de agaroză și proba de control.

Tabelul 4.1. Timpii de relaxare longitudinală (T1) și transversală (T2) măsurați la 11,7 T în fantome de agaroză care conțin concentrații crescătoare de nanoparticule Fe_3O_4 .

Concentrație Fe_3O_4	T1 la 11,7 T	T2 la 11,7 T
0 μM (control)	2,459 s	38,7 ms
0,1 μM	1,47 s	12,79 ms
3,5 μM	0,71 s	4,09 ms

4.2 Răspuns fototermic indus de NIR

Testul fototermic (Figura 4.5) a fost conceput pentru a diferenția încălzirea mediată de nanoparticule de absorbția directă a apei și pentru a evalua penetrarea prin materialul care mimează țesutul, în paralel cu caracterizarea spectrului de extincție al nanoparticulelor (Figura 4.6). Fantomele care conțineau 1,7 μM Fe_3O_4 au fost iradiate cu LED-uri de 850, 970 și 1100 nm la o putere experimentală de 100 mW timp de 15 min, imaginile termice fiind achiziționate la intervale de 30 s. O a doua serie de concentrații (0,1–27,6 μM) a comparat un LED de 970 nm cu un laser de 980 nm, tot la 100 mW.

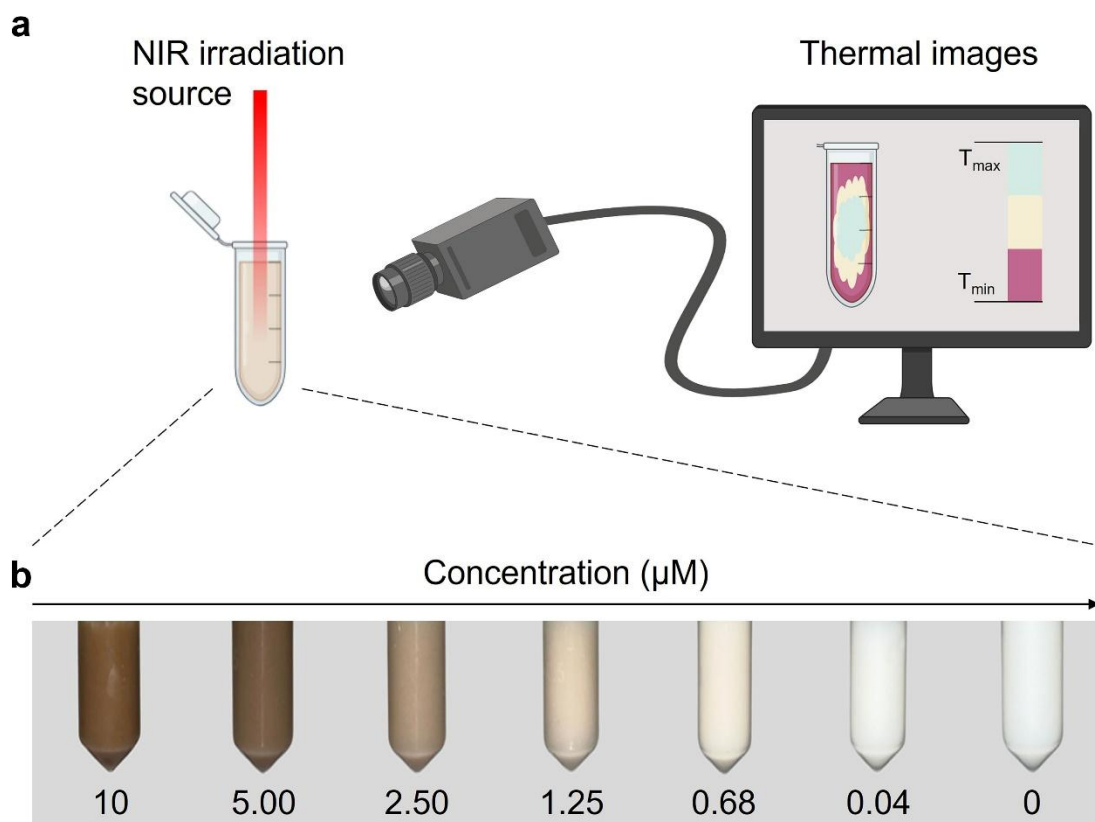


Figura 4.5 (a) Reprezentare schematică a configurației de iradiere NIR utilizate pentru evaluarea răspunsului termic al nanoparticulelor magnetice în fantome pe bază de agaroză; (b) fotografii digitale ale fantomelor pe bază de agaroză care conțin concentrații variabile de nanoparticule magnetice.

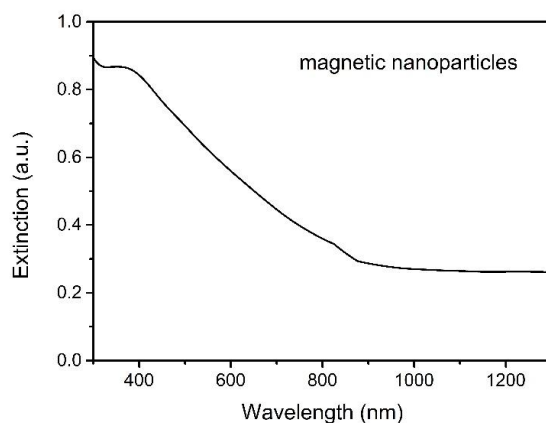


Figura 4.6 Spectrul de extincție al nanoparticulelor magnetice în soluție.

Dintre cele trei lungimi de undă LED, 970 nm a produs cea mai favorabilă combinație între profunzimea de penetrare și răspunsul termic (Figura 4.7). Profunzimile aproximative de penetrare au fost de 1,4 cm la 850 nm, 2,1 cm la 970 nm și 1,3 cm la 1100 nm. În fantomele care conțineau nanoparticule, creșterile maxime corespunzătoare ale temperaturii au fost de aproximativ 3,0°C, 5,0°C și 2,8°C, comparativ cu aproximativ 0,5°C, 1,9°C și 2,0°C în fantomele de control (Figura 4.8).

Eficiențele calculate de conversie fototermică au fost de 45,12% la 850 nm, 71,59% la 970 nm și 16,76% la 1100 nm.

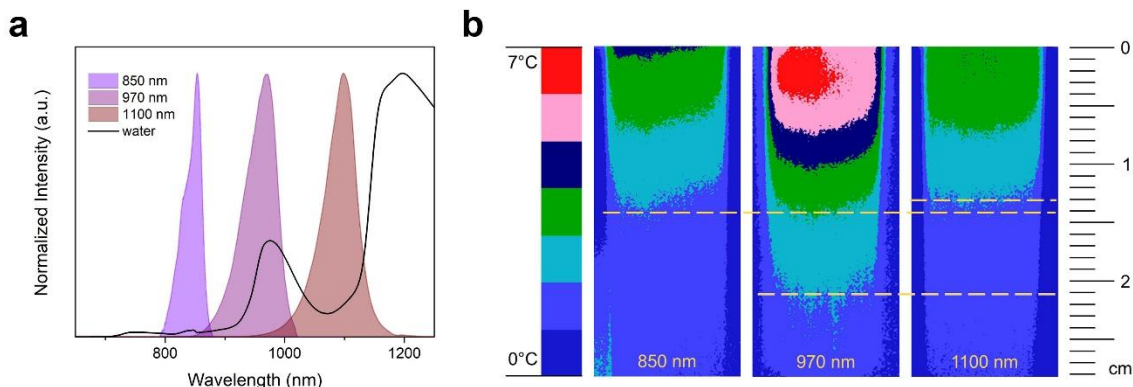


Figura 4.7 (a) Profilele de emisie ale iradierii cu LED NIR la lungimi de undă de 850 nm, 970 nm și 1100 nm, comparate cu spectrul de absorbție al apei; (b) efectele termice și de penetrare indirectă în fantome cu nanoparticule magnetice (concentrație 1,7 μM) sub iradiere cu LED NIR la 850 nm, 970 nm și 1100 nm. Scala de culori indică temperatura atinsă după 15 minute de iradiere, iar liniile punctate indică profunzimea de penetrare în fantome.

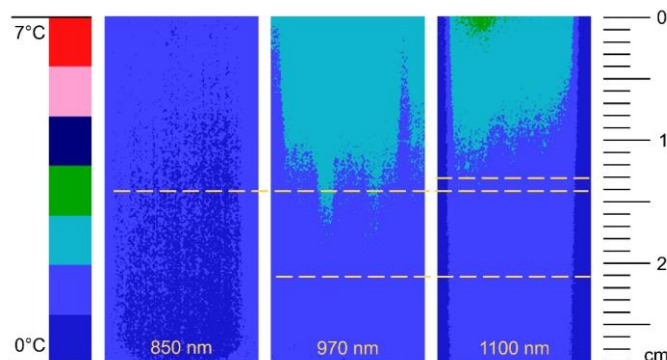


Figura 4.8 Imagini termice și efecte de penetrare indirectă în fantomele de control (fără nanoparticule magnetice) sub iradiere cu LED NIR la lungimi de undă de 850 nm, 970 nm și 1100 nm. Scala de culori indică temperatura atinsă după 15 minute de iradiere, iar liniile punctate indică profunzimea de penetrare în fantome.

LED-ul de 970 nm și laserul de 980 nm au produs profile temporale de încălzire diferite (Figura 4.9). Iradierea laser a determinat o creștere mai rapidă, cu tendința de a atinge maximum în aproximativ 5 min, în timp ce încălzirea prin LED a crescut progresiv pe parcursul celor 15 min de expunere. La cea mai mare concentrație de Fe_3O_4 (27,6 μM), ambele surse de iradiere au produs creșteri de temperatură de aproximativ 6°C. Important, un răspuns corespunzător hipertermiei ușoare a fost observat deja la concentrații de aproximativ 3,5 μM .

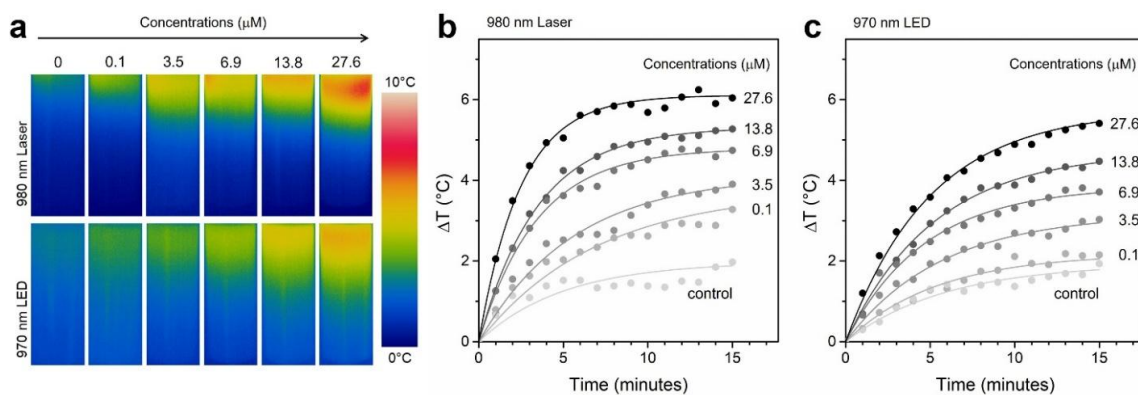


Figura 4.9 (a) Imagini termice după 15 minute de iradiere, (b) profile de temperatură pentru un laser de 980 nm și (c) profile de temperatură pentru un LED de 970 nm. Toate panourile prezintă fantome care conțin nanoparticule magnetice la concentrații de la 0 la 27,6 μM , ilustrând atât distribuția termică, cât și variația temperaturii în timp.

Tabelul 4.2. Compararea lungimilor de undă de iradiere NIR, incluzând profunzimea aproximativă de penetrare, creșterea temperaturii asociată nanoparticulelor și eficiența calculată de conversie fototermică.

Lungime de undă de iradiere	Penetrare aprox.	ΔT cu Fe_3O_4	Eficiență fototermică
850 nm LED	1,4 cm	3,0°C	45,12%
970 nm LED	2,1 cm	5,0°C	71,59%
1100 nm LED	1,3 cm	2,8°C	16,76%

Aceste experimente demonstrează că același miez de Fe_3O_4 poate susține atât contrastul IRM, cât și încălzirea indusă de NIR în matrici care mimează țesutul. Eficiența aparentă ridicată de conversie la 970 nm și penetrarea de aproximativ 2,1 cm observată în condițiile experimentale identifică această lungime de undă drept cea mai eficientă dintre LED-urile testate. Designul fantomelor oferă, de asemenea, o estimare mai conservatoare și cu relevanță translațională mai mare decât măsurătorile efectuate exclusiv în soluții de nanoparticule [38], [39], unde convecția și mobilitatea nerestricționată a particulelor pot supraestima performanța termică.

O parte dintre rezultatele prezentate în Capitolele 3 și 4 au fost publicate în R. Lapusan et al., „From Fundamentals to Applications: Magnetic Nanoparticles for MRI Imaging and NIR-Induced Thermal Activation in Tissue-Mimicking Environments,” *Journal of Materials Chemistry B*, 2025, 13, 12056–12072, DOI: 10.1039/D5TB01160D [40]. Publicația a fost selectată pentru reprezentare pe coperta a IV-a a revistei.

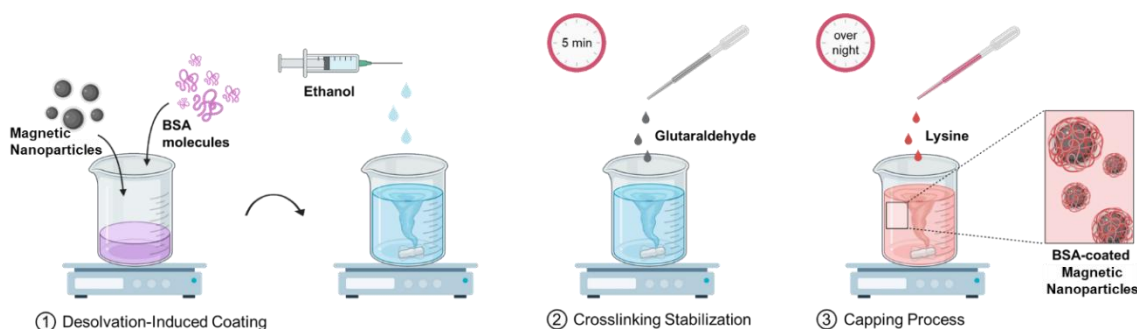
Capitolul 5. Ingineria suprafeței biocompatibile și funcționalizare

Agregarea pronunțată, dependentă de concentrație și de mediu, observată pentru miezurile neacoperite de oxid de fier a motivat o etapă de inginerie a suprafeței.

Capitolul 5 urmărește, prin urmare, două obiective complementare: în primul rând, stabilirea unui strat de BSA care să îmbunătățească stabilitatea coloidală păstrând comportamentul magnetic relevant pentru IRM; în al doilea rând, atașarea curcuminei la sistemul optimizat acoperit cu albumină pentru introducerea fluorescenței [41] și a funcționalității terapeutice activabile optic.

5.1 Biocompatibilizarea cu albumină serică bovină

IONs neacoperite, la 1,7 μM , au fost acoperite cu BSA la concentrații de 0,15, 0,30, 0,45 și 0,60 mM, utilizând procedura de biocompatibilizare în două etape prezentată în Schema 5.1. Albumina în etanol a fost adăugată în dispersia de nanoparticule cu un debit controlat de 2,3 mL/min, utilizând un raport volumic BSA:ION de 3,5:1. Stratul de albumină a fost stabilizat cu glutaraldehidă 8%, urmată de reacție peste noapte și tratament ulterior cu lizină. Nanoparticulele acoperite au fost purificate prin două etape de centrifugare la $21.380 \times g$ timp de 20 min și resuspendate în PBS sau în mediu biologic.



Schema 5.1 Reprezentare schematică a procesului în două etape utilizat pentru biocompatibilizarea IONs cu BSA, implicând desolvatarea urmată de stabilizare prin reticulare pentru obținerea unui strat proteic uniform.

DLS a evidențiat un efect clar de stabilizare dependent de gradul de acoperire (Figura 5.1). Cea mai mică concentrație de BSA (0,15 mM) a fost insuficientă pentru suprimarea agregării, în timp ce 0,30 mM a produs o reducere marcată a diametrului hidrodinamic. Creșterea concentrației BSA la 0,45 mM a oferit cel mai bun compromis general între distribuția dimensională, polidispersitate și performanța magnetică. Creșterea suplimentară la 0,60 mM nu a adus un beneficiu proporțional și a determinat formarea unui strat proteic mai gros.

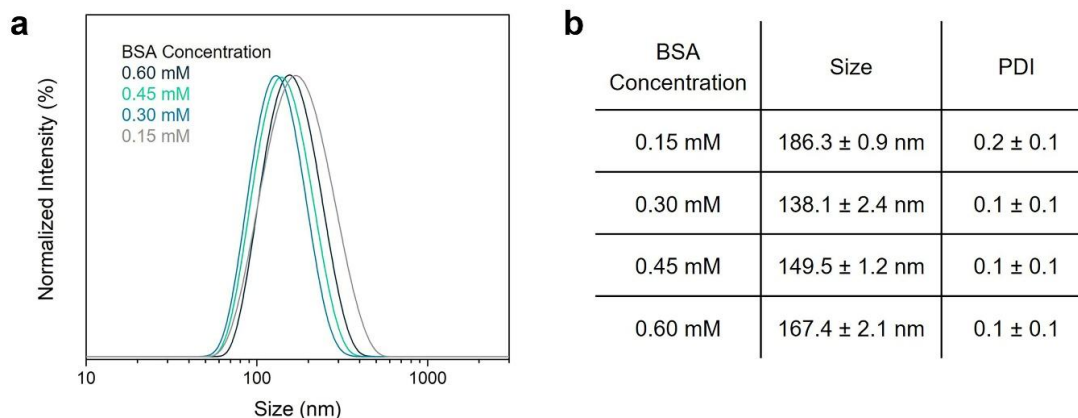


Figura 5.1 (a) Diametrul hidrodinamic normalizat al IONs acoperite cu concentrații crescătoare de BSA (0,15–0,60 mM), măsurat prin DLS. (b) Tabel care sintetizează dimensiunea și valorile PDI ale BIONs.

Relaxometria T2 la câmp redus a susținut independent selectarea concentrației de 0,45 mM BSA (Figura 5.2). IONs neacoperite au prezentat valori T2 progresiv mai scurte odată cu creșterea concentrației Fe_3O_4 , reflectând o defazare magnetică mai intensă și o agregare heterogenă. Acoperirea cu BSA a redus multiplicitatea componentelor de relaxare și a produs distribuții T2 mai omogene. La 0,32 μM Fe_3O_4 , de exemplu, componenta T2 principală s-a deplasat de la aproximativ 61 ms pentru 0,15 mM BSA la aproximativ 110 ms pentru 0,30 mM BSA și la aproximativ 27,6 ms pentru 0,45 mM BSA; la 1,27 μM Fe_3O_4 , formularea cu 0,45 mM BSA a produs un T2 de aproximativ 7,2 ms. Aceste rezultate demonstrează că acoperirea modifică nu doar stabilitatea hidrodinamică, ci și micromediul magnetic efectiv resimțit de protonii apei.

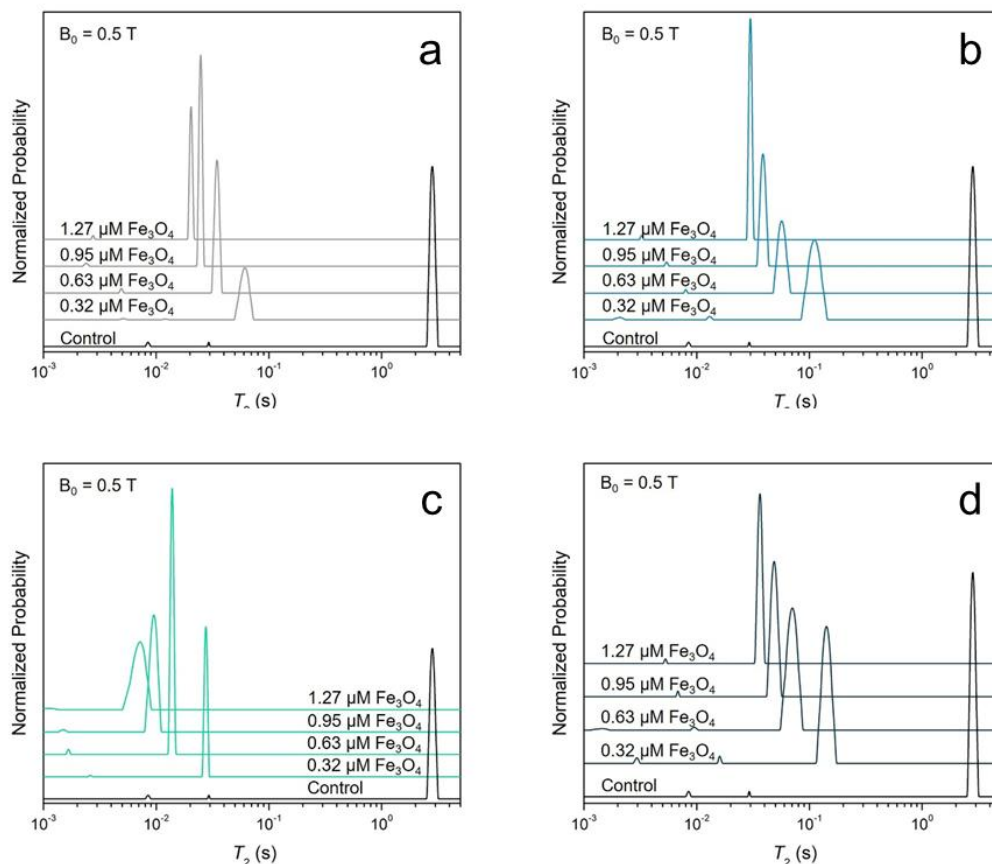


Figura 5.2 Distribuțiile T_2 măsurate la câmp magnetic redus (0,5 T) pentru BIONs cu diferite concentrații de BSA: (a) 0,15, (b) 0,30, (c) 0,45 și (d) 0,60 mM, dispersate în apă la concentrații Fe_3O_4 de 0,32, 0,63, 0,95 și 1,27 μM (albastru), comparativ cu controlul (negru).

Formularea cu 0,45 mM BSA a fost, în consecință, selectată ca platformă magnetică biocompatibilă optimizată (BIONs). Albumina oferă o interfață proteică compatibilă cu mediile fiziologice, reduce contactul necontrolat nanoparticulă–nanoparticulă și furnizează, totodată, grupări funcționale pentru conjugarea ulterioară. Această strategie de acoperire abordează direct agregarea identificată drept variabilă dominantă în Capitolele 3 și 4.

5.2 Funcționalizarea cu curcumină

Curcumina a fost selectată ca element organic multifuncțional deoarece oferă fluorescență intrinsecă și activitate biologică dependentă de lumină. BIONs optimizate au fost incubate cu o soluție stoc de curcumină $1,3 \times 10^{-4}$ M, într-un raport de 1:4, timp de 1 h la temperatura camerei. Produsul (CuBIONs) a fost purificat prin două etape de centrifugare la $21.380 \times g$ timp de 20 min, iar încărcarea cu curcumină a fost cuantificată spectrofotometric utilizând o curbă de calibrare la 428 nm.

Funcționalizarea nu a crescut măsurabil diametrul hidrodinamic mediu: BIONs au prezentat un diametru de $131,5 \pm 2,3$ nm, iar CuBIONs de $131,6 \pm 2,7$ nm, cu un indice de polidispersitate redus, de aproximativ 0,1 (Figura 5.3a). Potențialul zeta s-a modificat de la $-58,7 \pm 0,8$ mV pentru BIONs la $-45,6 \pm 2,68$ mV după legarea curcuminei, oferind dovezi fizico-chimice ale modificării suprafeței, cu păstrarea unei sarcini superficiale puternic negative, favorabile stabilității coloidale (Figura 5.3b).

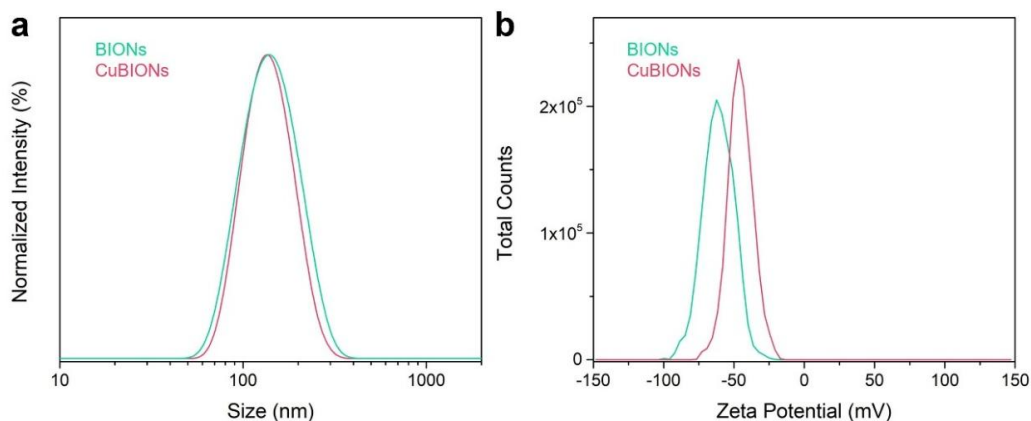


Figura 5.3 Diametrul hidrodinamic normalizat al BIONs, măsurat prin (a) DLS, și (b) potențialul zeta al BIONs și CuBIONs.

Caracterizarea optică a furnizat dovezi suplimentare ale asocierii reușite a curcuminei. Maximul de absorbție a prezentat o mică deplasare spre albastru, de aproximativ 5 nm, în timp ce emisia de fluorescență a devenit semnificativ mai intensă și s-a deplasat de la aproximativ 586 nm pentru curcumina liberă la aproximativ 541 nm pentru forma legată de nanoparticule (Figura 5.4). Eficiența de încărcare cu curcumină a fost de $71 \pm 1\%$. Datele combinate DLS, de potențial zeta și spectroscopice indică faptul că curcumina a fost încorporată fără destabilizarea miezului magnetic optimizat, acoperit cu BSA.

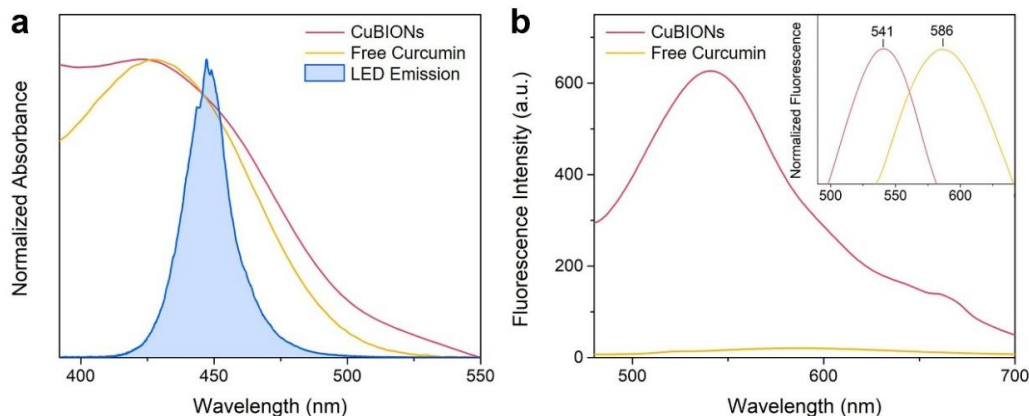


Figura 5.4 Spectrele normalizate de (a) absorbție și (b) emisie de fluorescență ale CuBIONs și curcuminei libere.

Tabelul 5.1. Proprietăți fizico-chimice comparative ale nanoparticulelor de oxid de fier acoperite cu BSA (BIONs) și ale BIONs funcționalizate cu curcumină (CuBIONs).

Proprietate	BIONs	CuBIONs
Diametru hidrodinamic	131,5 ± 2,3 nm	131,6 ± 2,7 nm
PDI	~0,1	~0,1
Potențial zeta	-58,7 ± 0,8 mV	-45,6 ± 2,68 mV
Încărcare cu curcumină	—	71 ± 1%

Capitolul 5 stabilește astfel o transformare etapizată de la nanoparticule de Fe_3O_4 neacoperite la o nanoplatformă multifuncțională stabilă. BSA la 0,45 mM limitează agregarea și oferă o interfață biocompatibilă, în timp ce curcumina introduce un marker optic și o componentă fotosensibilizatoare fără a modifica semnificativ dimensiunea hidrodinamică. Formularea CuBION rezultată a fost ulterior utilizată pentru validarea prin IRM/RMN, studii fotodinamice și evaluări biologice.

Capitolul 6. Aplicații biomedicale ale nanoparticulelor magnetice funcționalizate

Capitolul 6 evaluează dacă avantajele fizico-chimice obținute prin ingineria suprafeței se traduc în performanță la nivel aplicativ. Testele combină deliberat parametri fizici și biologici: IRM la câmp înalt și RMN localizat evaluează stabilitatea magnetică, un test chimic pentru oxigen singlet cuantifică activitatea fotodinamică, studiile de viabilitate testează toxicitatea în absența iradierii și răspunsul declanșat de lumină, iar microscopia de fluorescență evaluează captarea și penetrarea atât în culturi celulare bidimensionale, cât și în sferoizi tumorali tridimensionali.

6.1 IRM, RMN și stabilitate coloidală

Au fost preparate fantome pe bază de agaroză cu patru capilare liniare, umplute cu mediu de control, IONs neacoperite, BIONs și CuBIONs, și examinate la 11,7 T (Figura 6.1). În timpul expunerii la gradientii puternici ai scannerului s-a observat o diferență calitativă evidentă: IONs neacoperite au migrat și s-au acumulat, producând regiuni localizate în hiposemnal, în timp ce BIONs și CuBIONs au rămas semnificativ mai omogene. Experimentul a furnizat astfel o demonstrație macroscopică directă a faptului că acoperirea cu albumină suprimă agregarea și migrarea induse de câmpul magnetic.

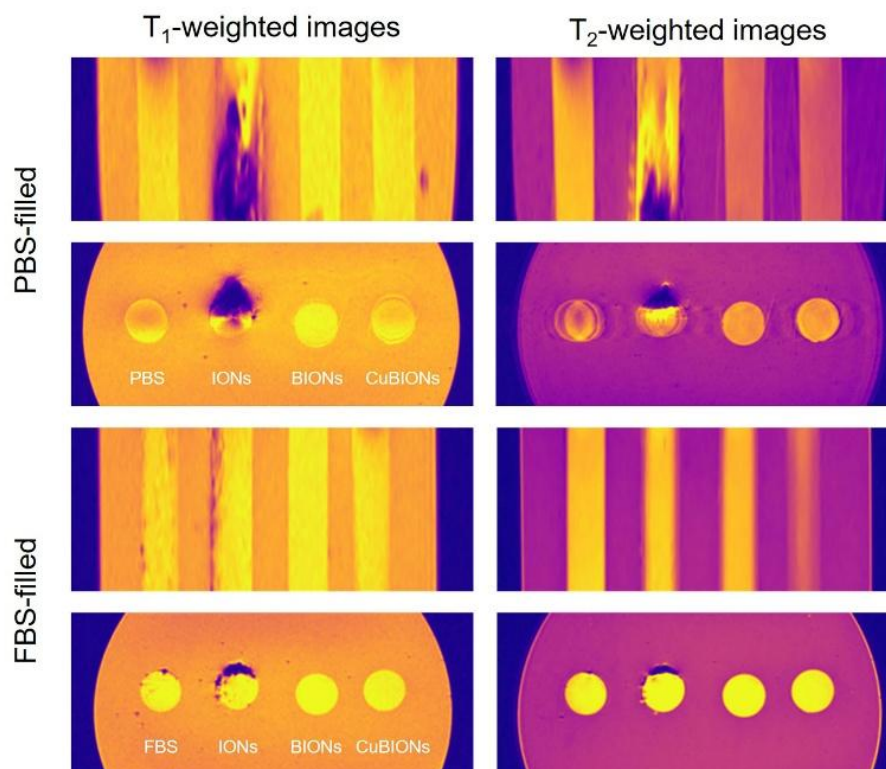


Figura 6.1 Imagini IRM la câmp înalt (11,7 T) ale fantomelor pe bază de agaroză care conțin patru capilare liniare umplute, de la stânga la dreapta, cu mediu de control, IONs, BIONs și CuBIONs. Primele două rânduri corespund fantomelor umplute cu PBS, iar ultimele două rânduri fantomelor umplute cu FBS. Coloanele din stânga prezintă imagini ponderate T_1 , iar cele din dreapta imagini ponderate T_2 . Tonurile mai închise indică regiuni cu intensitate mai mică a semnalului, iar tonurile mai deschise corespund unei intensități mai mari a semnalului.

Distribuțiile T2 localizate și spectrele RMN ^1H (Figura 6.2) au confirmat observația imagistică. IONs neacoperite au produs distribuții de relaxare mai largi și mai puțin omogene, precum și rezonanțe protonice lărgite/deplasate, reflectând o susceptibilitate magnetică spațial heterogenă. BIONs și CuBIONs au generat un comportament T2 mai uniform și au păstrat semnale ale apei mai înguste. Important, adăugarea curcuminei nu a anulat efectul stabilizator al stratului BSA. Datele la câmp înalt conectează astfel

optimizarea acoperirii din Capitolul 5 cu o reproductibilitate IRM îmbunătățită în condiții magnetice solicitante.

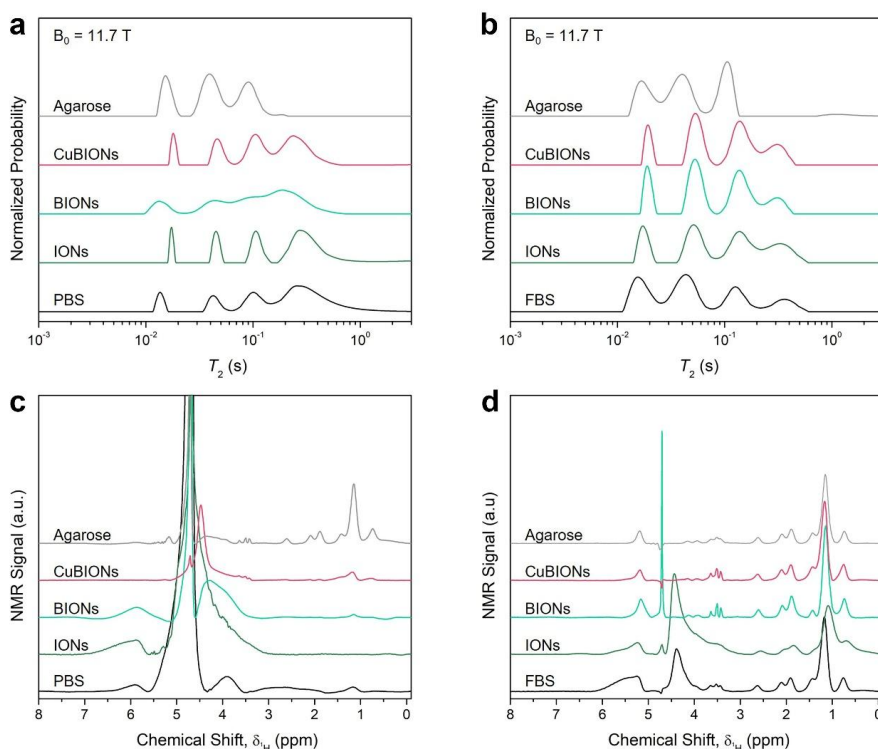


Figura 6.2 Distribuțiile T2 localizate (a, b) și spectrele RMN ¹H (c, d) pentru fantome pe bază de agaroză care conțin PBS sau FBS și nanoparticule magnetice: IONs neacoperite, BIONs și CuBIONs. (a, c) Probe dispersate în PBS; (b, d) probe dispersate în FBS.

6.2 Activitate fotodinamică și răspuns in vitro

Activitatea fotodinamică a fost evaluată cu ajutorul sondei DPBF pentru oxigen singlet în timpul iradierii la 458 nm timp de 120 s. Atât curcumina liberă, cât și CuBIONs au indus degradarea progresivă a DPBF (Figura 6.3), demonstrând generarea speciilor reactive de oxigen. Randamentul cuantic calculat al oxigenului singlet a crescut de la aproximativ 0,45 pentru curcumina liberă la 0,58 pentru CuBIONs. Această creștere moderată este compatibilă cu stabilizarea fotosensibilizatorului de către nanoplatforma pe bază de albumină și confirmă faptul că curcumina își păstrează fotoactivitatea după conjugare.

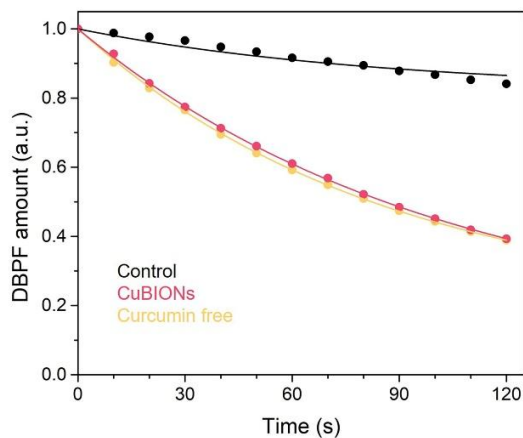


Figura 6.3 Degradarea moleculei DPBF pe parcursul a 120 s de iradiere cu laser la 458 nm, în stare liberă ca martor (negru), în prezența curcuminei libere (galben) și în prezența CuBIONs (roz).

Celulele de adenocarcinom murin C26 au fost utilizate ulterior pentru evaluarea citocompatibilității și fotoactivării. IONs neacoperite, într-un interval al concentrației Fe_3O_4 de aproximativ 5,3–340 nM, nu au redus semnificativ viabilitatea după 24 h, în timp ce BIONs au produs doar o ușoară tendință inhibitorie la cea mai mare concentrație testată (Figura 6.4). Similar, curcumina liberă și CuBIONs, la o concentrație de curcumină de aproximativ 9,3 μM , nu au produs un efect citotoxic semnificativ în absența iradierii, în condițiile selectate (Figura 6.5).

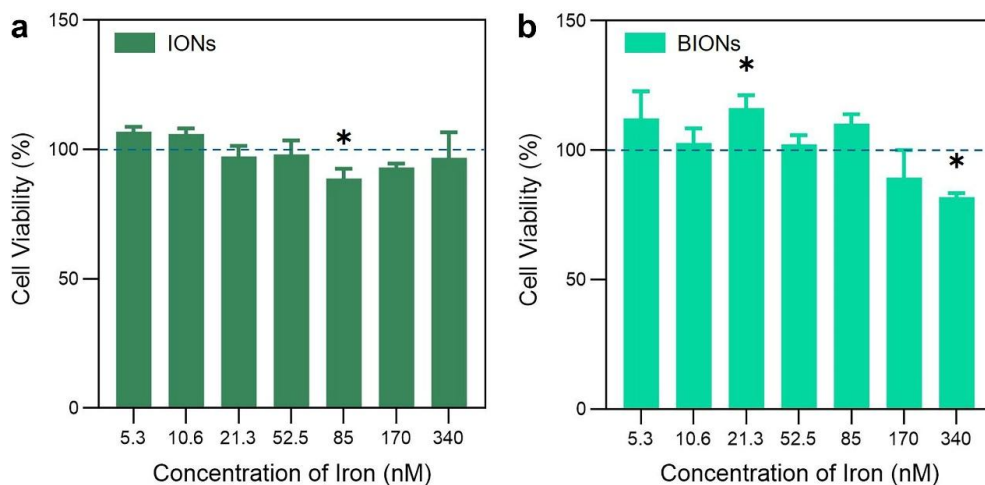


Figura 6.4 Efectele IONs neacoperite (a) și ale BIONs cu 0,45 mM BSA (b) asupra viabilității celulelor de adenocarcinom murin C26. Datele sunt prezentate ca procent mediu al viabilității celulare $\pm$ SD din determinări efectuate în triplicat. Semnificația statistică este indicată în raport cu martorul netratat – linia punctată albastră ($p < 0,01$, * $p < 0,001$; ANOVA unifactorială cu test post hoc).

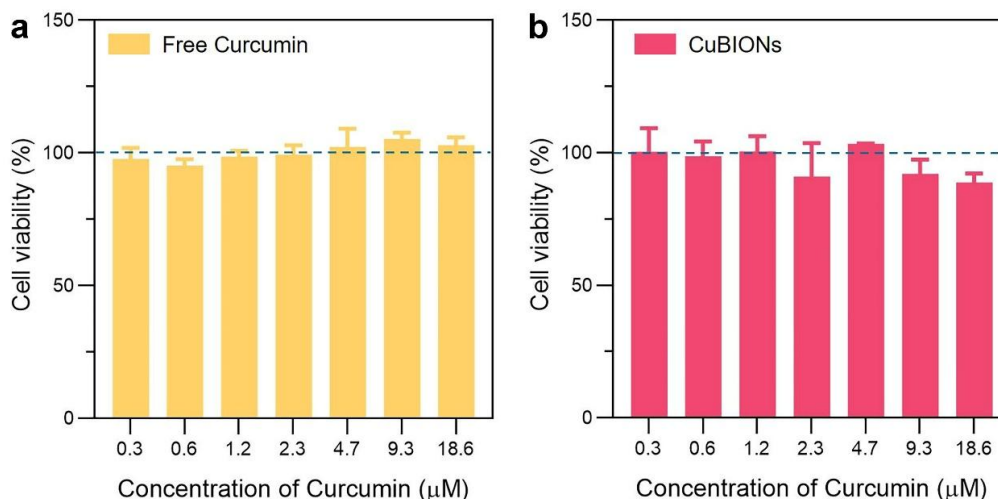


Figura 6.5 Efectele curcuminei libere (a) și ale CuBIONs (b) asupra viabilității celulelor de adenocarcinom murin C26. Datele sunt prezentate ca procent mediu al viabilității celulare $\pm$ SD din determinări efectuate în triplicat. Semnificația statistică este indicată în raport cu martorul netratat – linia punctată albastră ($p < 0,01$, $*p < 0,001$, $**p < 0,0001$; ANOVA unifactorială cu test post hoc).

După iradierea la 455 nm, s-a observat însă o scădere clară, dependentă de lumină, a viabilității celulelor C26 atât pentru curcumina liberă, cât și pentru CuBIONs (Figura 6.6). După 10 min de iradiere, viabilitatea celulară s-a redus cu aproximativ 30% comparativ cu martorii neiradiați ($p < 0,0001$), în timp ce iradierea singură nu a generat un efect comparabil. Aceste rezultate demonstrează că CuBIONs păstrează activitatea fotodinamică a curcuminei și că răspunsul biologic depinde de activare, nefiind consecința unei toxicități bazale semnificative a nanoparticulelor.

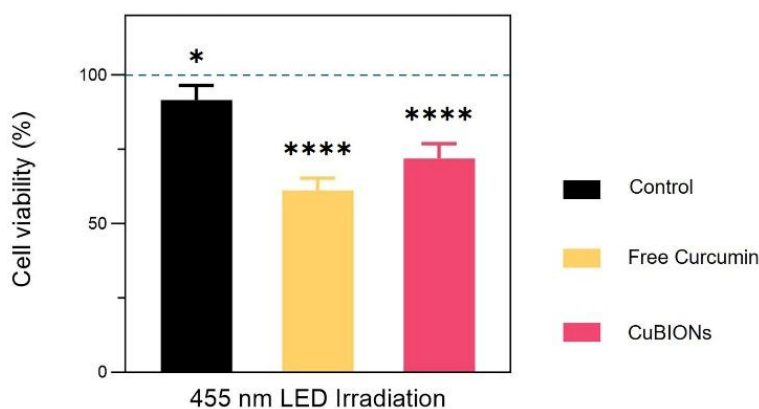


Figura 6.6 Efectul curcuminei libere (galben) și al CuBIONs (roz) asupra viabilității celulelor de carcinom colonic murin C26 după 24 h de incubare. Viabilitatea celulară a fost evaluată prin testul fosfatazei acide, iar datele sunt exprimate ca medie $\pm$ SD ($n = 3$), normalizate la martorul netratat, neiradiat (linia punctată albastră, viabilitate 100%). Semnificația statistică a fost determinată în raport cu grupul de control ($p < 0,01$, $*p < 0,001$, $**p < 0,0001$, $***p < 0,00001$, $****p < 0,000001$; ANOVA unifactorială cu test post hoc).

6.3 Captare celulară și imagistica prin fluorescență

Microscopia de fluorescență a demonstrat o fluorescență intracelulară asociată curcuminei substanțial mai intensă după incubarea cu CuBIONs decât cu curcumină liberă (Figura 6.7). În culturile bidimensionale C26, CuBIONs au produs un aspect citoplasmatic punctiform intens, compatibil cu internalizarea nanoparticulelor, în timp ce molecula liberă a generat un semnal mai slab. Această diferență arată că transportorul magnetic pe bază de albumină îmbunătățește livrarea încărcăturii fluorescente către celulele tumorale, păstrând simultan miezul de oxid de fier activ în IRM.

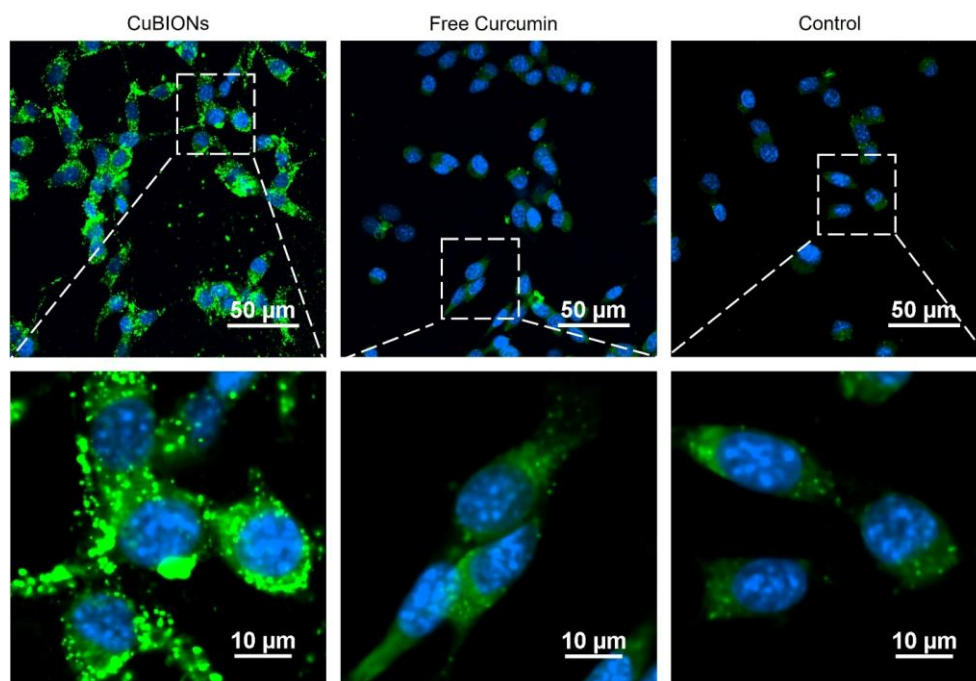


Figura 6.7 Imagini de microscopie confocală de fluorescență care evidențiază captarea celulară în culturi C26 de cancer colorectal după 24 h de incubare: CuBIONs (stânga), curcumină liberă (centru) și martor netratat (dreapta). Nucleii au fost colorați cu DAPI (albastru), iar fluorescența curcuminei apare în verde. Bare de scară: 50 μm (sus), 10 μm (jos).

Sferozii tridimensionali de cancer colorectal C26 au fost utilizați pentru a testa platforma într-un model cu bariere de difuzie care reproduce mai fidel țesutul tumoral solid. După 24 h de incubare, reconstrucția confocală tridimensională a evidențiat fluorescență intensă asociată CuBIONs în întregul volum al sferoidului (Figura 6.8). Achizițiile Z-stack, cu pași de aproximativ 2,5 μm , au documentat semnal pe o profunzime de aproximativ 350 μm , iar analiza planului optic central a confirmat fluorescență asociată nanoparticulelor la profunzimi de peste 300 μm , cu păstrarea morfologiei sferoidului (Figura 6.9).

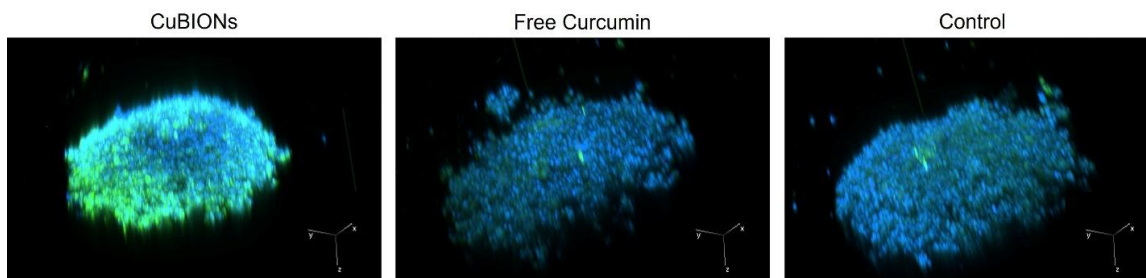


Figura 6.8 Reconstrucție confocală 3D prin fluorescență a sferoizilor de cancer colorectal C26 după 24 h de incubare cu CuBIONS (stânga), curcumină liberă (centru) și martor netratat (dreapta). Nucleii au fost colorați cu DAPI (albastru), iar fluorescența curcuminei apare în verde. Z-stack-urile au fost achiziționate cu un pas de 2,5 μm , acoperind o profunzime totală de aproximativ 350 μm și permițând vizualizarea întregului volum al arhitecturii sferoidului.

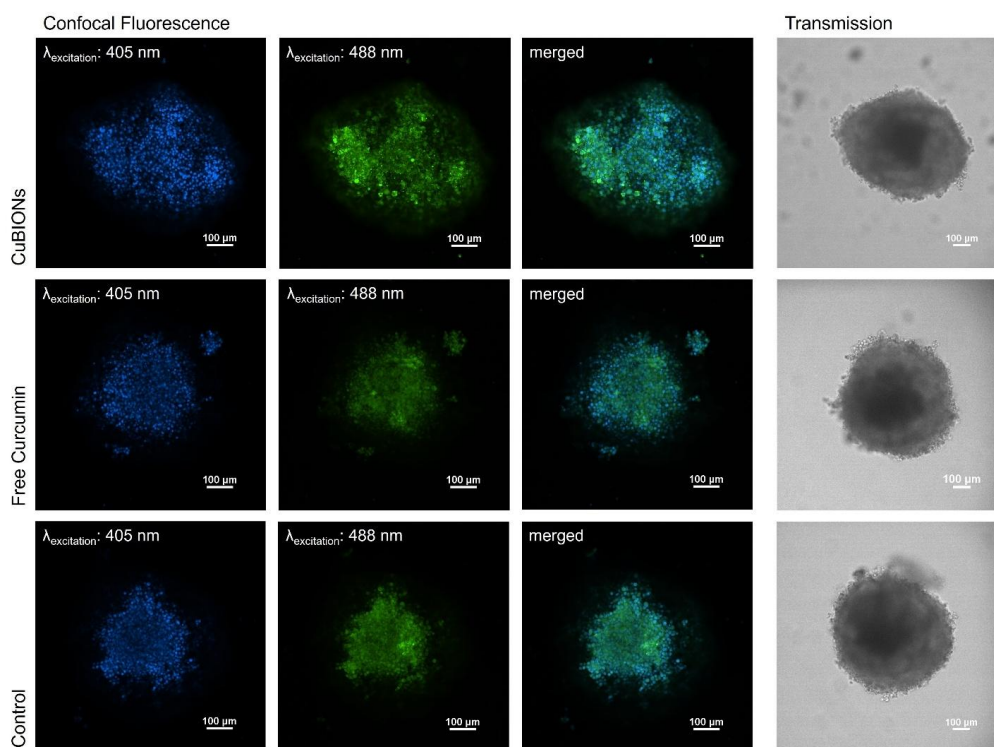


Figura 6.9 Imagini confocale de fluorescență și transmisie din planul Z central al sferoizilor C26 după 24 h de incubare cu CuBIONS (sus), curcumină liberă (centru) și martor netratat (jos). Nucleii au fost colorați cu DAPI (albastru), iar fluorescența curcuminei apare în verde. Bare de scară: 100 μm .

Tabelul 6.1. Sinteza principalilor parametri funcționali obținuți pentru platforma de nanoparticule magnetice funcționalizate, incluzând comportamentul IRM/RMN, activitatea fotodinamică, citocompatibilitatea și penetrarea în sferoizi 3D.

Parametru funcțional	Rezultat principal
Stabilitate IRM/RMN	BIONS și CuBIONS au rămas mai omogene decât IONS neacoperite la câmp înalt
Randamentul cuantic al oxigenului singlet	0,45 pentru curcumina liberă; 0,58 pentru CuBIONS
Citotoxicitate în absența iradierii	Fără scădere majoră a viabilității în condițiile selectate
Răspuns fotodinamic	~30% reducere a viabilității după 10 min de iradiere; $p <$

Parametru funcțional	Rezultat principal
	0,0001
Penetrare în sferoizi 3D	Fluorescență detectată la profunzimi de peste 300 μm

Rezultatele obținute în modelul 3D sunt deosebit de importante deoarece performanța nanoparticulelor în culturi celulare monostrat nu prezice neapărat penetrarea tisulară. Capacitatea CuBIONS de a rămâne stabile coloidal, de a păstra fluorescența și de a pătrunde profund în sferoizi compacți susține relevanța funcțională a acoperirii cu BSA. Împreună cu datele IRM/RMN și fotodinamice, aceste experimente validează CuBIONS ca platformă cu adevărat multimodală, și nu ca simplu amestec de componente magnetice și fluorescente.

Concluzii finale și perspective

Această teză de doctorat a dezvoltat o platformă nanoteranostică bazată pe IRM prin integrarea nanoparticulelor magnetice ultramici de Fe_3O_4 cu ingineria rațională a suprafeței, comportament termic sensibil la NIR, fluorescență și activitate fotodinamică. Strategia experimentală a progresat în mod deliberat de la sinteza materialului către medii cu complexitate crescândă, permițând evaluarea fiecărui nivel funcțional suplimentar în raport cu proprietățile magnetice și coloidale stabilite în etapa precedentă.

Primul rezultat major a fost sinteza reproductibilă a nanoparticulelor ultramici de magnetită, cu un diametru TEM mediu de $9,23 \pm 2,97$ nm și o dimensiune a cristalitelor XRD de $10,3 \pm 2$ nm. Concordanța strânsă dintre aceste valori indică faptul că particulele sunt predominant monocristaline. Magnetizarea lor de saturație a fost de aproximativ 52,4 emu/g, iar potențialul zeta în mediu apos de $+31,6 \pm 1,8$ mV. În același timp, DLS a demonstrat că dimensiunea hidrodinamică efectivă nu este dictată de miezul primar: în apă ultrapură s-a produs o agregare substanțială, dependentă de concentrație și modificată de prezența proteinelor serice.

Această dependență de dispersie s-a dovedit centrală pentru comportamentul IRM. Relaxometria la câmp redus a evidențiat o scurtare T_2 progresiv mai accentuată și componente de relaxare tot mai heterogene odată cu creșterea concentrației nanoparticulelor. În fantomele de agaroză la 11,7 T, 0,1 μM Fe_3O_4 a redus T_1 de la 2,459 s la 1,47 s și T_2 de la 38,7 ms la 12,79 ms; la 3,5 μM , T_1 a scăzut la 0,71 s, iar T_2 la 4,09 ms. Imagistica clinică la 1,5 T a demonstrat suplimentar un comportament dual dependent de concentrație: concentrațiile mici/intermediare au susținut o creștere pozitivă a semnalului T_1 comparabilă cu Gadovist, în timp ce la concentrațiile mai mari au predominat susceptibilitatea și scăderea de semnal asociată T_2 .

Al doilea rezultat major a fost demonstrarea faptului că același miez ultramic de Fe_3O_4 poate susține încălzirea indusă de NIR în matrici care mimează țesutul. Dintre LED-urile investigate, 970 nm a oferit cea mai mare profunzime măsurată de penetrare, de aproximativ 2,1 cm, împreună cu o creștere a temperaturii asociată nanoparticulelor de aproximativ 5°C la 1,7 μM și o eficiență calculată de conversie fototermică de 71,59%. Experimentele dependente de concentrație, realizate cu un LED de 970 nm și

un laser de 980 nm, au arătat că hipertermia ușoară poate fi obținută începând de la aproximativ 3,5 μM Fe_3O_4 și că dinamica termică diferă între excitația cu LED pe arie largă și excitația laser focalizată.

Al treilea rezultat a fost dezvoltarea unei formulări cu suprafață modificată, care abordează direct agregarea identificată în studiile asupra miezului. Variația sistematică a concentrației de albumină a arătat că 0,45 mM BSA oferă cel mai favorabil compromis între dimensiunea hidrodinamică, polidispersitate și comportamentul T2. BIONs optimizate au fost ulterior funcționalizate cu curcumină, cu o eficiență de încărcare de $71 \pm 1\%$. Această modificare a păstrat un diametru hidrodinamic de aproximativ 132 nm și un potențial zeta puternic negativ, introducând în același timp fluorescență intensificată și funcționalitate activabilă optic.

Particulele funcționalizate au rămas active magnetic și semnificativ mai omogene decât IONs neacoperite în timpul IRM la câmp înalt. Măsurătorile T2 localizate și RMN ^1H au susținut aceeași concluzie, demonstrând că acoperirea cu BSA limitează agregarea și migrarea magnetică fără a elimina efectul asupra relaxării. Conjugarea curcuminei nu a compromis această stabilizare. Aceste experimente stabilesc chimia suprafeței drept o variabilă practică de control pentru îmbunătățirea reproductibilității IRM, și nu doar ca pe o modificare biologică a miezului anorganic.

Măsurătorile fotodinamice au confirmat că încărcătura de curcumină rămâne activă după funcționalizare. CuBIONs au generat oxigen singlet cu un randament cuantic de aproximativ 0,58, comparativ cu aproximativ 0,45 pentru curcumina liberă. În celulele C26, IONs neacoperite, BIONs și CuBIONs nu au prezentat citotoxicitate importantă în absența iradierii în condițiile selectate, în timp ce fotoactivarea a produs un răspuns terapeutic clar. Aproximativ 10 min de iradiere cu lumină albastră au redus viabilitatea celulară cu aproximativ 30%, cu semnificație statistică înaltă, în timp ce iradierea singură nu a reprodus acest efect.

În final, microscopia de fluorescență a demonstrat că transportorul magnetic acoperit cu albumină îmbunătățește substanțial livrarea celulară a curcuminei. CuBIONs au produs o fluorescență intracelulară mai intensă decât curcumina liberă în culturile 2D C26 și au penetrat profund sferoizii 3D de cancer colorectal. Analiza confocală Z-stack a demonstrat fluorescență asociată nanoparticulelor la profunzimi de peste 300 μm ,

oferind dovezi că dispersia optimizată și interfața de albumină rămân relevante funcțional într-un model tumoral tridimensional compact.

Împreună, aceste rezultate susțin o relație coerentă structură–dispersie–funcție. Dimensiunea și cristalinitatea miezului primar stabilesc potențialul magnetic; agregarea determină modul în care acest potențial se exprimă prin contrast T1 sau T2 și influențează comportamentul termic; acoperirea cu BSA îmbunătățește controlul coloidal; iar curcumina adaugă fluorescență și activitate fotodinamică fără a anula performanța IRM. CuBIONs rezultate combină astfel detectabilitatea prin IRM, vizualizarea prin fluorescență și acțiunea terapeutică declanșată de lumină într-o singură platformă nanometrică.

Studiile viitoare ar trebui să prioritizeze biodistribuția in vivo, farmacocinetica, performanța ca agent de contrast IRM și siguranța, inclusiv evaluarea cantitativă a acumulării în ficat, splină și tumori. Componenta fotodinamică poate fi optimizată prin ajustarea încărcării cu fotosensibilizator, a lungimii de undă de excitație și a parametrilor de iradiere, iar selectivitatea tumorală ar putea fi îmbunătățită prin liganzi de țintire activă. Strategiile combinate care integrează PDT cu răspunsul fototermic demonstrat, chimioterapia convențională sau alte terapii locale merită, de asemenea, investigate. În final, translația clinică va necesita standardizarea formulării, stabilitate pe termen lung și fabricație reproductibilă, împreună cu validarea în modele de boală în care IRM poate ghida în mod relevant diagnosticul, planificarea terapeutică sau monitorizarea tratamentului.

Referințe

- [1] O. S. Faragallah et al., "A Comprehensive Survey Analysis for Present Solutions of Medical Image Fusion and Future Directions," *IEEE Access*, vol. 9, pp. 11358–11371, 2021, doi: 10.1109/ACCESS.2020.3048315.
- [2] S. Hussain et al., "Modern Diagnostic Imaging Technique Applications and Risk Factors in the Medical Field: A Review," *BioMed Research International*, vol. 2022, pp. 1–19, Jun. 2022, doi: 10.1155/2022/5164970.
- [3] G. Kandasamy and D. Maity, "Recent advances in superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for in vitro and in vivo cancer nanotheranostics," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 496, no. 2, pp. 191–218, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.058.
- [4] H. B. Harvey, V. Gowda, and G. Cheng, "Gadolinium Deposition Disease: A New Risk Management Threat," *Journal of the American College of Radiology*, vol. 17, no. 4, pp. 546–550, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.jacr.2019.11.009.
- [5] A. Shariati, T. Ebrahimi, P. Babadinia, F. S. Shariati, and R. Ahangari Cohan, "Synthesis and characterization of Gd3+-loaded hyaluronic acid-polydopamine nanoparticles as a dual contrast agent for CT and MRI scans," *Sci Rep*, vol. 13, no. 1, p. 4520, Mar. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-31252-0.
- [6] R. Lapusan, R. Borlan, and M. Focsan, "Advancing MRI with magnetic nanoparticles: a comprehensive review of translational research and clinical trials," *Nanoscale Adv.*, vol. 6, no. 9, pp. 2234–2259, 2024, doi: 10.1039/D3NA01064C.
- [7] F. N. Sayed and V. Polshettiwar, "Facile and Sustainable Synthesis of Shaped Iron Oxide Nanoparticles: Effect of Iron Precursor Salts on the Shapes of Iron Oxides," *Sci Rep*, vol. 5, no. 1, p. 9733, May 2015, doi: 10.1038/srep09733.
- [8] L. Santoro, L. Grazioli, A. Filippone, E. Grassedonio, G. Belli, and S. Colagrande, "Resovist enhanced MR imaging of the liver: Does quantitative assessment help in focal lesion classification and characterization?," *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 30, no. 5, pp. 1012–1020, Nov. 2009, doi: 10.1002/jmri.21937.
- [9] K. Takeshita et al., "Effect of Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced MRI of the Liver With Hepatocellular Carcinoma and Hyperplastic Nodule," *Journal of Computer Assisted Tomography*, vol. 26, no. 3, pp. 451–455, May 2002, doi: 10.1097/00004728-200205000-00024.
- [10] E. A. Neuwelt et al., "Ultras-small superparamagnetic iron oxides (USPIOs): a future alternative magnetic resonance (MR) contrast agent for patients at risk for nephrogenic systemic fibrosis (NSF)?," *Kidney International*, vol. 75, no. 5, pp. 465–474, Mar. 2009, doi: 10.1038/ki.2008.496.
- [11] A. Luciani et al., "Adipose Tissue Macrophages: MR Tracking to Monitor Obesity-associated Inflammation," *Radiology*, vol. 263, no. 3, pp. 786–793, Jun. 2012, doi: 10.1148/radiol.12111957.
- [12] R. A. Trivedi et al., "Identifying Inflamed Carotid Plaques Using In Vivo USPIO-Enhanced MR Imaging to Label Plaque Macrophages," *ATVB*, vol. 26, no. 7, pp. 1601–1606, Jul. 2006, doi: 10.1161/01.ATV.0000222920.59760.df.
- [13] A. Saleh et al., "Iron Oxide Particle-Enhanced MRI Suggests Variability of Brain Inflammation at Early Stages After Ischemic Stroke," *Stroke*, vol. 38, no. 10, pp. 2733–2737, Oct. 2007, doi: 10.1161/STROKEAHA.107.481788.
- [14] S. Buch et al., "Revealing vascular abnormalities and measuring small vessel density in multiple sclerosis lesions using USPIO," *NeuroImage: Clinical*, vol. 29, p. 102525, 2021, doi: 10.1016/j.nicl.2020.102525.
- [15] J. Yan et al., "Effects of magnetically targeted iron oxide@polydopamine-labeled human umbilical cord mesenchymal stem cells in cerebral infarction in mice," *Aging*, Feb. 2023, doi: 10.18632/aging.204540.
- [16] Y. Anzai and M. R. Prince, "Iron oxide-enhanced MR lymphography: The evaluation of cervical lymph node metastases in head and neck cancer," *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 7, no. 1, pp. 75–81, Jan. 1997, doi: 10.1002/jmri.1880070111.
- [17] D. A. J. J. Driessen et al., "High-Accuracy Nodal Staging of Head and Neck Cancer With USPIO-Enhanced MRI: A New Reading Algorithm Based on Node-to-Node Matched Histopathology," *Invest Radiol*, vol. 57, no. 12, pp. 810–818, Dec. 2022, doi: 10.1097/RLI.0000000000000902.
- [18] S. Tong, H. Zhu, and G. Bao, "Magnetic iron oxide nanoparticles for disease detection and therapy," *Materials Today*, vol. 31, pp. 86–99, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.mattod.2019.06.003.

- [19] P. Carmeliet and R. K. Jain, "Angiogenesis in cancer and other diseases," *Nature*, vol. 407, no. 6801, pp. 249–257, Sep. 2000, doi: 10.1038/35025220.
- [20] X. Montet, K. Montet-Abou, F. Reynolds, R. Weissleder, and L. Josephson, "Nanoparticle Imaging of Integrins on Tumor Cells," *Neoplasia*, vol. 8, no. 3, pp. 214–222, Mar. 2006, doi: 10.1593/neo.05769.
- [21] C. W. Kessinger, O. Togao, C. Khemtong, G. Huang, M. Takahashi, and J. Gao, "Investigation of In Vivo Targeting Kinetics of $\alpha v \beta 3$ -Specific Superparamagnetic Nanoprobes by Time-Resolved MRI," *Theranostics*, vol. 1, pp. 263–273, 2011, doi: 10.7150/thno/v01p0263.
- [22] F. Danhier, "To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine?," *Journal of Controlled Release*, vol. 244, pp. 108–121, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.11.015.
- [23] J. Wu, "The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application," *JPM*, vol. 11, no. 8, p. 771, Aug. 2021, doi: 10.3390/jpm11080771.
- [24] L. Wang et al., "Exerting Enhanced Permeability and Retention Effect Driven Delivery by Ultrafine Iron Oxide Nanoparticles with T1 – T2 Switchable Magnetic Resonance Imaging Contrast," *ACS Nano*, vol. 11, no. 5, pp. 4582–4592, May 2017, doi: 10.1021/acsnano.7b00038.
- [25] B. E. Hamilton et al., "Comparative Analysis of Ferumoxytol and Gadoteridol Enhancement Using T1- and T2-Weighted MRI in Neuroimaging," *American Journal of Roentgenology*, vol. 197, no. 4, pp. 981–988, Oct. 2011, doi: 10.2214/AJR.10.5992.
- [26] S. Gahramanov et al., "Pseudoprogression of Glioblastoma after Chemo- and Radiation Therapy: Diagnosis by Using Dynamic Susceptibility-weighted Contrast-enhanced Perfusion MR Imaging with Ferumoxytol versus Gadoteridol and Correlation with Survival," *Radiology*, vol. 266, no. 3, pp. 842–852, Mar. 2013, doi: 10.1148/radiol.12111472.
- [27] M. Iv et al., "Quantification of Macrophages in High-Grade Gliomas by Using Ferumoxytol-enhanced MRI: A Pilot Study," *Radiology*, vol. 290, no. 1, pp. 198–206, Jan. 2019, doi: 10.1148/radiol.2018181204.
- [28] M. Eivazi, P. M. Khaniabadi, S. H. Hejazi, and D. Shahbazi-Gahrouei, "Porphyrin-iron oxide nanoparticle functionalized with trastuzumab (ION-PP-TZ) potential MR imaging probe for breast cancer cells," *Appl. Phys. A*, vol. 128, no. 6, p. 509, Jun. 2022, doi: 10.1007/s00339-022-05558-1.
- [29] C.-W. Yang et al., "Indocyanine Green-Conjugated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoworm for Multimodality Breast Cancer Imaging," *ACS Appl. Nano Mater.*, vol. 5, no. 12, pp. 18912–18920, Dec. 2022, doi: 10.1021/acsanm.2c04687.
- [30] C. Chiang et al., "IOP Injection, A Novel Superparamagnetic Iron Oxide Particle MRI Contrast Agent for the Detection of Hepatocellular Carcinoma: A Phase II Clinical Trial," *Magnetic Resonance Imaging*, p. jmri.28645, Feb. 2023, doi: 10.1002/jmri.28645.
- [31] M. Zhang, K. Kandasamy, Y. Perera, D. Inglese, and E. Smith-Nguyen, "Abstract 3586: In vivo targeted detection and imaging of ovarian cancer by SPMR and MRI using anti-folate receptor functionalized iron oxide nanoparticles," *Cancer Research*, vol. 83, no. 7_Supplement, pp. 3586–3586, Apr. 2023, doi: 10.1158/1538-7445.AM2023-3586.
- [32] Radboud University Medical Center, "Unravelling the Invisible Infiltrating Component of Glioblastoma Using MRI and a Strong Iron-like Bloodpool Contrast Medium?," *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration NCT05656300, Dec. 2022. Accessed: Sep. 12, 2023. [Online]. Available: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05656300>
- [33] A. Kirichenko, "Adaptive Stereotactic Radiotherapy With Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPION) Cellular Magnetic Resonance Imaging on MR-Linac (MR-L-SPION) for Primary and Metastatic Hepatic Malignancies With Assessment of Treatment Response.," *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration NCT04682847, Feb. 2023. Accessed: Sep. 12, 2023. [Online]. Available: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04682847>
- [34] J. Maranchie, "Virtual Histology of the Bladder Wall for Bladder Cancer Staging: A Novel Intravesical Contrast-Enhanced MRI for Bladder Cancer Staging," *clinicaltrials.gov*, Clinical trial registration NCT04369560, Oct. 2022. Accessed: Sep. 12, 2023. [Online]. Available: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04369560>
- [35] Y. Li et al., "Targeted Delivery of DNA Topoisomerase Inhibitor SN38 to Intracranial Tumors of Glioblastoma Using Sub-5 Ultrafine Iron Oxide Nanoparticles," *Adv Healthcare Materials*, vol. 11, no. 14, p. 2102816, Jul. 2022, doi: 10.1002/adhm.202102816.

- [36] H. Chen and J. Wen, "Iron oxide nanoparticles loaded with paclitaxel inhibits glioblastoma by enhancing autophagy-dependent ferroptosis pathway," *European Journal of Pharmacology*, vol. 921, p. 174860, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.ejphar.2022.174860.
- [37] Y. Liu et al., "Effects of crystal size and sphere diameter on static magnetic and electromagnetic properties of monodisperse Fe₃O₄ microspheres," *Materials Chemistry and Physics*, vol. 173, pp. 152–160, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.matchemphys.2016.01.053.
- [38] X. Zhang et al., "Composite Photothermal Platform of Polypyrrole-Enveloped Fe₃O₄ Nanoparticle Self-Assembled Superstructures," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, no. 16, pp. 14552–14561, Aug. 2014, doi: 10.1021/am503831m.
- [39] B. Getiren, Z. Çıplak, C. Gökalp, and N. Yıldız, "NIR-responsive Fe₃O₄@PPy nanocomposite for efficient potential use in photothermal therapy," *J of Applied Polymer Sci*, vol. 137, no. 44, Nov. 2020, doi: 10.1002/app.49343.
- [40] R. Lapusan et al., "From Fundamentals to Applications: Magnetic Nanoparticles for MRI Imaging and NIR-Induced Thermal Activation in Tissue-Mimicking Environments," *J. Mater. Chem. B*, p. 10.1039.D5TB01160D, 2025, doi: 10.1039/D5TB01160D.
- [41] 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*, vol. Volume 16, pp. 2147–2171, Mar. 2021, doi: 10.2147/IJN.S295234.

Diseminare

Publicații aferente tezei

***Advancing MRI with magnetic nanoparticles:
a comprehensive review of translational research
and clinical trials***

Radu Lapusan, Raluca Borlan, Monica Focsan
Nanoscale Advances, 2024, 6, 2234–2259.

DOI: 10.1039/D3NA01064C.

Teza menționează un factor de impact de 6,2 și 117 citări
la data de august 2026; articolul a fost selectat pentru
reprezentare pe coperta a IV-a (reprodusă în partea stângă).



Showing research from Assoc. Prof. Monica Focsan's research group, Faculty of Physics, Babes Bolyai University, Cluj Napoca, Romania.

Advancing MRI with magnetic nanoparticles: a comprehensive review of translational research and clinical trials

Enter the transformative realm of contemporary medicine, where Magnetic Resonance Imaging (MRI) stands as a cornerstone, intertwining technology with healing. R. Lapusan and R. Borlan's exploration delves into the integration of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs) within MRI, spotlighting their adaptability and safety. From neurological disorders to tumour characterization, SPIONs offer unprecedented precision and potential, yet challenges persist from biocompatibility to iron overload risks. This comprehensive review navigates SPIONs' evolution, from foundational research to cutting-edge applications, offering insights into their journey as MRI contrast agents.



rsc.li/nanoscale-advances
(Registered charity number: 203995)

***From Fundamentals to Applications: Magnetic
Nanoparticles for MRI Imaging and NIR-Induced
Thermal Activation in Tissue-Mimicking Environments***

Radu Lapusan, Andreea Balmus, Radu Fechete,
Bogdan Viorel Neamtu, Jessica Ponti, Raluca Borlan,
Monica Focsan
Journal of Materials Chemistry B, 2025, 13, 12056–12072.

DOI: 10.1039/D5TB01160D.

Teza menționează un factor de impact de 6,2; articolul a fost
selectat pentru reprezentare pe coperta a IV-a (reprodusă aici).



Journal of
Materials Chemistry B

Materials for biology and medicine
rsc.li/materials-b

ISSN 2050-750X



PAPER
Raluca Borlan, Monica Focsan et al.
From fundamentals to applications: magnetic nanoparticles
for MRI imaging and NIR-induced thermal activation in
tissue-mimicking environments

Dual-Modality MRI and Fluorescence Imaging with Albumin–Coated Iron Oxide Nanoparticles: In Vitro Assessment for Preoperative Planning and Intraoperative Guidance

Andreea Balmus, Radu Lapusan, Stefan Dragan, Radu Fechete, Alina Sesarman, Manuela Banciu, Jessica Ponti, Raluca Borlan, Monica Focsan

Lucrare în curs de elaborare, conform tezei de doctorat.

Contribuții la conferințe

- Prezentare orală — 15th International Conference “Processes in Isotopes and Molecules”, 2025, Cluj-Napoca: “From Imaging to Therapy: Curcumin-functionalized magnetic nanoparticles for dual MRI/Fluorescence imaging and photodynamic therapy”.
- Poster — Regional Biophysics Conference & 15th Greta Pifat-Mrzljak International School of Biophysics, 2024, Split: “Exploring Biomedical Applications of BSA-Coated SPIONs Grafted with Curcumin: A Multimodal Approach for MRI, Fluorescence Imaging and Photodynamic Therapy”.
- Poster — 18th International Summer Schools on Nanosciences & Nanotechnologies, Organic Electronics & Nanomedicine, 2024, Thessaloniki: “Tailored Therapeutics: BSA-Coated SPIONs Grafted with Curcumin for Advanced Cancer Imaging and Therapy”.
- Poster — International School of Nanomedicine Workshop, iulie 2022, Erice: “ICG-grafted albumin-coated magnetite nanoparticles for therapeutic and diagnostic biomedical use”.