

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

«На правах рукопису»

УДК 577.25:606:676-006.6](043.3)

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

Голуб Наталія ГОЛУБ

17 травня 2024 р

Магістерська дисертація
на здобуття ступеня магістра
за освітньо-науковою програмою «Біотехнології»
зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
на тему: «Застосування механочутливих іонних каналів кальцію в
біотехнології лікування раку»

Виконав:

Студент 2 курсу, групи ББ-21мн
Салацький Євген Андрійович

Науковий керівник:

Проф. каф. біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології
д.т.н., проф.
Горобець Світлана Василівна

Консультант з розділу: економічна частина

Доц. каф. економіки і підприємства, к.е.н., доц.
Погребняк Анна Юріївна

Рецензент:

канд. фіз.-мат. наук, с.д.,
зав. Лабораторією 03 відділу 05
Інституту магнетизму НАН України та МОН України
Дереча Дмитро Олександрович

Засвідчую, що у цій
магістерській дисертації немає
запозичень з праць інших авторів
без відповідних посилань.
Студент Салацький Євген

Київ – 2024

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

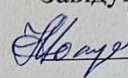
Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-наукова програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

 Наталія ГОЛУБ

«32» 01 2024 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту

Салацькому Євгену Андрійовичу

1. Тема дисертації «Застосування механочутливих іонних каналів кальцію в біотехнології лікування раку», керівник роботи Горобець Світлана Василівна, д.т.н., професор, затверджені наказом по університету від «01» квітня 20__ р. № 1520-С

2. Термін подання студентом роботи 07.06.2024

3. Вихідні дані до роботи

Мета роботи: встановити спосіб керування вхідного потоку кальцію через механочутливі іонні канали пухлинних клітин стравоходу в біотехнології лікування раку за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у зовнішньому магнітному полі.

Завдання роботи:

1. Літературний огляд кореляції між концентрацією кальцію у клітині та онкогенезу, кореляції стосовно механочутливості кальцієвих каналів і

апоптозу чи зупинки проліферації, та літератури стосовно процесу зчитування та передачі сигналів кальцію в пухлинних клітинах, літератури стосовно впливу (біогенних / штучних) магнітних наночастинок на механочутливі канали.

2. Провести математичне моделювання сигналу кальцію в пухлинній клітині стравоходу, використовуючи різні значення частоти обертання однорідного магнітного поля, та різні значення магнітної індукції відповідного поля.

3. Написання стартап-проекту зі створення апаратури, що генерує терапевтичне магнітне поле.

Предмет дослідження: процес зчитування та передачі сигналу кальцію в пухлинній клітині стравоходу за використанням (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у однорідному обертовому магнітному полі.

Об'єкт дослідження:

- напруження зсуву на мембрані пухлинної клітини стравоходу за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у однорідному обертовому магнітному полі.

- сигнал кальцію в клітинах пухлин стравоходу.

4. Зміст роботи: літературний огляд кореляції дизрегуляції концентрації кальцію клітини з онкогенезом, кореляції дизрегуляції експресії механочутливих каналів кальцію та онкогенезу, літератури стосовно біогенних магнітних наночастинок, впливу магнітних полів на пухлини, проведення математичного моделювання коливання концентрацій кальцію в пухлинній клітині стравоходу, інтерпретація отриманих результатів та формулювання висновків.

5. Перелік ілюстративного матеріалу: презентація, слайдів – 24

6. Орієнтовний перелік публікацій:

1. Горобець С.В. Вплив механочутливих каналів кальцію на онкогенез / Горобець С.В., Салацький Є.А. // «Біотехнологія XXI століття»: матеріали

XVIII Міжнародної науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених (Київ, 17 травня 2024) [Електронне видання] / Міністерство освіти і науки України, КПІ ім. Ігоря Сікорського, Національна академія наук України, Інститут клітинної біології та генетичної інженерії – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2024– с. 161 – 163

2. Горобець О.Ю., Горобець С.В., Салацький Є.А., «Вплив магнітного поля та магнітних наночастинок на кальцієвий сигнал у клітинах раку стравоходу», 2024 (надіслано до журналу Innovative Biosystems and Bioengineering).

7. Консультанти розділів роботи

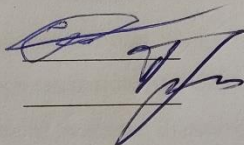
Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розробка стартап-проекту	Погребняк А.Ю., к.е.н., доцент		

8. Дата видачі завдання 22.01.2024

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1	Визначення предмету дослідження	22.01.2024 - 22.02.2024	виконано
2	Характеристика об'єкту дослідження	23.02.2024 - 10.03.2024	виконано
3	Огляд літератури	11.03.2024 - 10.04.2024	виконано
4	Виконання експериментальної частини	11.04.2024 - 12.05.2024	виконано
5	Розробка стартап-проекту	18.05.2024 - 20.05.2024	виконано
6	Аналіз проведеної роботи	21.05.2024 - 23.05.2024	виконано
8	Оформлення магістерської дисертації	24.05.2024 - 28.05.2024	виконано

Студент
Керівник



Євген САЛАЦЬКИЙ
Світлана ГОРОБЕЦЬ

РЕФЕРАТ

Магістерська дисертація обсягом 98 аркушів складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків та переліку посилань зі 74 джерел. Містить 18 рисунків та 30 таблиць.

Об'єктом дослідження є напруження зсуву на мембрані пухлинної клітини стравоходу за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у однорідному обертовому магнітному полі, та сигнал кальцію в пухлинній клітині стравоходу.

Предметом дослідження є процес зчитування та передачі сигналу кальцію в пухлинній клітині стравоходу за використанням (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у однорідному обертовому магнітному полі.

Метою роботи є встановлення способу керування вхідного потоку кальцію через механочутливі іонні канали пухлинних клітин стравоходу в біотехнології лікування раку за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у зовнішньому магнітному полі.

На основі математичного моделювання було проведено теоретичне виявлення режимів низькочастотного магнітного поля за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок на поверхні мембрани для пригнічення сигналу кальцію, що призводить до пригнічення проліферації пухлинної клітини стравоходу за рахунок утворення напруження зсуву мембрани.

Ключові слова: рак стравоходу, онкологічні захворювання, магнітні наночастинки, магнітне поле, кальцій, механочутливі іонні канали, математичне моделювання.

ABSTRACT

The master's dissertation of 98 pages consists of an introduction, four chapters, conclusions, and a list of 74 references. Contains 18 figures and 30 tables.

The object of study is the shear stress on the membrane of an esophageal tumor cell in the presence of (biogenic / artificial) magnetic nanoparticles in a uniform rotating magnetic field, and the calcium signal in an esophageal tumor cell.

The subject of the study is the process of decoding and transmitting a calcium signal in an esophageal tumor cell using (biogenic / artificial) magnetic nanoparticles in a homogeneous rotating magnetic field.

The purpose of the work is to establish a method for controlling the calcium influx through mechanosensitive ion channels of esophageal tumor cells in cancer biotechnology in the presence of (biogenic / artificial) magnetic nanoparticles in an external magnetic field.

Based on mathematical modeling, theoretical detection of low-frequency magnetic field modes in the presence of (biogenic / artificial) magnetic nanoparticles on the membrane surface was carried out to suppress the calcium signal, which leads to inhibition of esophageal tumor cell proliferation due to the formation of membrane shear stress.

Keywords: esophageal cancer, oncological diseases, magnetic nanoparticles, magnetic field, calcium, mechanosensitive ion channels, mathematical modelling.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	10
ВСТУП	13
1 ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	16
1.1 Сучасні методи лікування раку.....	16
1.2 Вплив сигналу кальцію на онкогенез.....	18
1.3 Біогенні магнітні наночастинки	20
1.4 Частотне декодування осциляцій внутрішньоклітинної концентрації кальцію	32
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	35
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	36
3.1 Математична модель.....	36
3.2 Результати математичного моделювання.....	49
4 ЕКОНОМІЧНА ЧАСТИНА.....	56
4.1 Резюме інноваційної пропозиції.....	56
4.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу	60
4.3 Визначення ключових факторів успіху проєкту	66
4.4 Визначення категорій потенційних споживачів.....	70
4.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку	74
4.5.1 Метод, орієнтований на витрати.....	74
4.5.2 Агрегатний метод.....	77
4.5.3 Параметричний метод	77
4.5.4 Конкурентний метод	78
4.5.5 Метод на основі аналізу точки беззбитковості	78

4.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту	80
4.7 Ризики стартап-проекту та методи управління ними.....	82
ВИСНОВКИ	89
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	90

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

SERCA – sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase – Ca^{2+} -АТФ-аза сарко / ендоплазматичного ретикулуму) або кальцієва АТФ-аза сарко / ендоплазматичного ретикулуму

ER – endoplasmic reticulum / ЕР – ендоплазматичний ретикулум

CP – саркоплазматичний ретикулум

TRP – transient receptor potential / ТРП – транз'єєтний (перехідний) рецепторний потенціал

TRPC6 – Transient Receptor Potential Cation Channel 6 – транз'єєтний рецепторний потенціал, катіонний канал 6

TRPV - Transient Receptor Potential Vanilloid – транз'єєтний рецепторний потенціал, ванілоїдного типу

MNPs – Magnetic Nanoparticles – магнітні наночастинки

PLN – Phospholamban – фосфоламбан, регуляторний білок

SLN – Sarcolipin – сарколіпін, регуляторний білок

VGCC – Voltage-Gated Calcium Channels – напругозалежні канали кальцію

NMDA рецептори – N-Methyl-D-Aspartate Receptors – N-Метил-D-аспартатні рецептори

WSS – wall shear stress / НЗМ – напруження зсуву мембрани

MF – magnetic field / МП – магнітне поле

IP3 – inositol 1,4,5-trisphosphate / ІФ3 – інозитол-1,4,5-трифосфат

IP3R – inositol trisphosphate receptor – рецептор інозитол-трифосфату

ECs – endothelial cells / ЕК – ендотеліальні клітини

VEGF – vascular endothelial growth factor / ФРЕС – фактор росту ендотелію судин

ERK – extracellular signal-regulated kinase / КРП – кінрази, регульовані позаклітинним сигналом або класичні MAP-кінрази; термін «позаклітинні

сигнально-регульовані кінази» іноді використовується як синонім мітоген-активовані протеїнкінази (МАРК);

CaMKII – кальмодулін;

CICR – calcium induced-calcium release / ВКВК – викликане кальцієм вивільнення кальцію

BMN – biogenic magnetic nanoparticles / БМН – біогенні магнітні наночастинки

SD – single domain / ОД – однодоменний

CDK4 (cyclin-dependent kinase 4) – циклін-залежна кіназа 4

MD – multidomain / БД – багатодоменний (стан)

MNP – magnetic nanoparticles / МНЧ – магнітні наночастинки

SAPK (Stress-activated protein kinases) – протеїнкінази, що активуються стресом;

GP (Glycogen phosphorylase) – глікоген фосфорилаза;

GPCR (G protein-coupled receptor) – G-білокспряжений рецептор;

GEF (Guanine nucleotide exchange factor) – фактор обміну гуанінових нуклеотидів, активують малі ГТФази, які діють як молекулярні перемикачі у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах і входять до складу надродини Ras, ГТФази активні, коли зв'язані з GTP, і неактивні, коли зв'язані з GDP;

GAP (GTPase activating proteins) – ГТФаза-активуючі білки;

МАРК (mitogen-activated protein kinases) – протеїнкінази, що активуються мітогенами;

Ras (Rat sarcoma virus GTPase) – ГТФази саркомовірусу щурів;

RB1 (Retinoblastoma protein 1) – ретинобластомний білок 1;

BMN (biological magnetic nanoparticles) – біогенні магнітні наночастинки;

MTB (magnetotactic bacteria) – магнітотаксисні бактерії;

IRM (isothermal residual magnetism) – ізотермічна залишкова намагніченість;

K2P (Two-pore-domain potassium) – двопорові доменні калієві канали;

KCNJ (Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J) – напругозалежний калієвий канал;

DEG/ENaC (Degenerin/epithelial sodium channel) – дегенерин/епітеліальні натрієві канали;

NVU (neurovascular unit) – нейроваскулярна одиниця;

PLB (phospholamban) – фосфоламбан;

LVDCC (L-type voltage-dependent calcium channel) – напругозалежний канал кальцію L-типу.

ВСТУП

Підвищена концентрація кальцію у клітині при певних умовах здатна до спричинення проліферації цієї клітини. Зазвичай процес підвищення концентрації кальцію є керованим. Таким чином, проліферація відбувається керовано. З іншого боку, відповідно дизрегуляція іонообмінних процесів на клітинній мембрані може призвести до надлишкового надходження кальцію, що у свою чергу призводить до хибно позитивного проходження тестування стану клітини, який необхідний для успішної проліферації. Відповідно через зазначений процес клітина набуває пухлинного статусу [1].

Враховуючи вище зазначені зміни у життєвому циклі клітини, можна стверджувати про онкоасоційованість патологічних змін у кальцієвому сигналі у клітині.

Кальцієвий сигнал може надходити з оточуючого середовища певних клітин через механочутливі іонні канали. Існує позитивна кореляція між наявністю механочутливих іонних каналів з підвищеним ризиком канцерогенезу по лініям клітин [2].

При умовах, якщо ми зможемо зрозуміти вплив механочутливих іонних каналів на канцерогенний сигнал, то ми зможемо краще впливати на нього, зменшуючи канцерогенез.

Іонні канали в межах сімейства часто мають високий рівень гомології, зокрема в межах пороутворюючих доменів, на які багато блокаторів каналів здійснюють свою дію, але мають дуже різні фізіологічні ролі [3]. Для впливу на іонні канали необхідно, щоб антитіла приєднувались до мішеней, проте цільові білки, як правило, мають позаклітинні петлі (extracellular loops), які є малими для прикріплення антитіл для іонних каналів ссавців, та є консервативними, що робить антитіла менш специфічними. У випадку, якщо канали мають достатньо великий позаклітинний домен, їх експресія замала, щоб їх можна було використовувати у виготовленні рекомбінантних

білків [3]. Таким чином, використання механочутливості іонних каналів потенційно може бути використане для неінвазійного методу лікування раку, що буде мати менші побічні ефекти, ніж традиційні методи лікування раку, за рахунок локалізації впливу магнітного поля і створення локального напруження зсуву на мембрані клітин в органі мішені при таргетній доставці штучних магнітних наночастинок або за рахунок наявності біогенних магнітних наночастинок.

Мета роботи: встановити спосіб керування вхідного потоку кальцію через механочутливі іонні канали пухлинних клітин стравоходу в біотехнології лікування раку за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у зовнішньому магнітному полі.

Завдання роботи:

1. Літературний огляд кореляції між концентрацією кальцію у клітині та онкогенезу, кореляції стосовно механочутливості кальцієвих каналів і апоптозу чи зупинки проліферації, та літератури стосовно процесу зчитування та передачі сигналів кальцію в пухлинних клітинах, літератури стосовно впливу (біогенних / штучних) магнітних наночастинок на механочутливі канали.

2. Провести математичне моделювання сигналу кальцію в пухлинній клітині стравоходу, використовуючи різні значення частоти обертання однорідного магнітного поля, та різні значення магнітної індукції відповідного поля.

3. Написання стартап-проєкту зі створення апаратури, що генерує терапевтичне магнітне поле.

Предмет дослідження: процес зчитування та передачі сигналу кальцію в пухлинній клітині стравоходу за використанням (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у однорідному обертовому магнітному полі.

Об'єкт дослідження:

- напруження зсуву на мембрані пухлинної клітини стравоходу за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок у однорідному обертовому магнітному полі.

- сигнал кальцію в клітинах пухлин стравоходу.

Практичне застосування: напруження зсуву, що виникає при дії магнітного поля на магнітні наночастинок на поверхні мембрани пухлинних клітин, впливає на активність механочутливих каналів кальцію, що при певних значеннях індукції магнітного поля може призводити до зупинки проліферації.

Наукова новизна: теоретичне виявлення режимів низькочастотного магнітного поля за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок на поверхні мембрани для пригнічення сигналу кальцію, що призводить до пригнічення проліферації пухлинної клітини стравоходу за рахунок утворення напруження зсуву мембрани.

1 ОСНОВНА ЧАСТИНА

1.1 Сучасні методи лікування раку

Для лікування раку використовують такі методи, як хірургічне втручання, радіотерапія, хіміотерапія, імунотерапія, та їх комбінації [4]. Традиційна хіміотерапія є неспецифічним типом лікування раку, тобто цитотоксичний ефект розповсюджується на весь організм, що призводить до негативних наслідків для пацієнту. З метою зменшення шкоди нормальним клітинам організму, стали використовувати таргетні терапії, що в основному складаються з імунотерапії, а саме використовують кон'юговані хімічно мічені моноклональні антитіла [5], що мають специфічність до поверхневих антигенів пухлинних клітин певного типу. Також можуть використовувати безпосередньо малі молекули для таргетного лікування раку, проте вони мають такі проблеми, як то утворення стійкості до лікування, та відносно низька відповідь, тобто відтворюваність терапевтичного ефекту для різних пацієнтів [6].

Приблизно 18% ліків (малих молекул) націлені на іонні канали, які представляють другий за величиною цільовий клас мембранних білків після G-білокспряжені рецептори (GPCR), але при цьому з усіх ліків, націлених на білки іонних каналів, лише 8% було схвалено для терапевтичного застосування [3].

При створенні антитіл, що націлені на іонні канали, наявні проблеми, оскільки відповідні канали доволі часто мають малі розміри позаклітинних петель, що робить їх складними мішенями для створення антитіл [3]. Ті ж іонні канали, що мають великі позаклітинні домени, експресуються у недостатніх кількостях, щоб можна було зробити відповідне антитіло [3]. На практиці, всього 1 антитіло (BIL010t [7]) пройшло перший етап клінічних досліджень за останні 30 років [8].

Радіотерапія, через механізм дії, а саме вплив іонізуючого опромінення на спадкову інформацію, може призводити до вторинного онкогенезу (з

метастазуванням) за рахунок опромінення нормальних клітин [4]. Сучасні методи радіотерапії дозволяють менше уражувати нормальні тканини за рахунок збільшення точності визначення локалізації пухлин, як то при використанні комп'ютерної томографії. При цьому треба проводити контроль дозування опромінювання, оскільки надлишкові дози можуть призвести до ускладнень, оскільки опромінення все одно буде проходити через нормальні тканини під час опромінення області з пухлиною [4].

Магнітні наночастинки можуть використовувати задля спрямовування наночастинок кремнію з цитотоксичним агентом, та використовувати в якості конвертору енергії з магнітного поля у теплову форму, що буде призводити до загибелі клітини, як було продемонстровано в експериментах з використанням щурів в якості референтної системи [9].

Магнітні поля, що утворюються від постійних магнітів чи електричного струму, використовують для лікування раку [10]. Статичні магнітні поля та низькочастотні (менше 300 кГц) мають протипухлинні ефекти, не маючи при цьому помітних теплових ефектів, за рахунок зупинки проліферації, індукції апоптозу та автофагії [10]. Низькочастотні обертові магнітні поля (20 Гц при 50 мТ) здатні до інгібування розвитку агломератів пухлинних клітин печінки та легень, проте механізми дії не є відомими [11], при цьому 20 Гц знаходиться в діапазоні робочих частот декодування кальпаїном [12]. Низькочастотне обертове магнітне поле (0,4 Тл та 7,5 Гц) призводило до загибелі пухлинних клітин легень [13], при цьому 7,5 Гц так само в діапазоні робочих частот декодування кальпаїном [12], що має біологічний сенс, бо його експресія асоційована з відповідним типом раку [14].

Обертові магнітні поля з частотами у 2-20 Гц та індукцією магнітного поля у 0,1-20 мТл здатні до зменшення життєздатності лінії пухлинних клітин MCF-7 (рак грудей) за наявності магнетитових магнітних

наночастинок, що супроводжувалось невідворотними морфологічними змінами пухлинних клітин [15].

1.2 Вплив сигналу кальцію на онкогенез

Сигнал кальцію впливає на багато обмінних процесів клітини, відповідно нестандартні зміни в сигналі кальцію (як наслідок змін у функціонуванні кальцієвих каналів) може призводити до змін в регуляції клітинних процесів, та як наслідок, до порушення нормального проходження цих процесів. Для нівелювання наслідків для всього організму (як отримання трансформованої, тобто пухлинної, клітини, що стане осередком злоякісної пухлини), в клітинах є механізм, що реагує саме на цей сценарій. Так, надлишкове надходження іонів кальцію до мітохондрій може призвести до ініціації апоптозу за рахунок підвищення чутливості мітохондрій до апоптичних стимулів. При цьому сигнал кальцію може потрапити до мітохондрії виключно через ендоплазматичний ретикулум (ER). Один з апоптичних стимулів є дія стрес-активованих протеїнкіназ (SAPK), що у свій час набувають активність в результаті стресу ендоплазматичного ретикулуму, що виникає при хронічному надлишковому надходженні іонів кальцію [16].

Надлишкове надходження кальцію до ендоплазми призводить до хибно позитивного проходження G1/S перевірки (тобто проліферації) за рахунок деактивації RB1 (ретинобластомний білок 1) метаболічного шляху. Це відбувається за рахунок фосфорилювання RB1. Процес починається з індукції кальцієвим сигналом гуанозин-обмінного фактору (GEF), що у свою чергу є стимулятором Ras, який потрібен для стимуляції мітоген-активованого протеїнкіназою метаболічного шляху (MAPK), що і стимулює інгібіцію RB1 [17]. Діаграму наведено на рисунку 1.

Враховуючи вище зазначені процеси, при несанкціонованому надходженні кальцію у клітину, хибно позитивна проліферація цієї клітини

не відбудеться за рахунок апоптозу, що можна вважати за захист від онкогенного впливу змін кальцієвого сигналу. Таким чином, для успішного онкогенезу потрібно, щоб зазначений раніше апоптичний механізм перестав працювати. Для цього потрібно, щоб іони кальцію не надходили всередину.

Згідно з дослідженням [18], було отримано зупинку проліферації, зупинку клітинного циклу на G2/M етапі, зупинку міграції та фероптоз пухлинних клітин легень, використовуючи вплив на Ca/кальмодулін-залежні метаболічні шляхи через застосування еріаніну. Терапевтичний ефект обумовлений збільшенням надходження Ca^{2+} та Fe^{2+} через напругозалежний канал кальцію L-типу (LVDCC) через вплив на кальмодулін, що пояснює фероптоз [18]. Надходження Ca^{2+} до мітохондрій з цитоплазми призводило до отримання ROS у пухлинних клітинах легень, що також є фактором у фероптозі (було доведено за рахунок інгібування надходження Ca^{2+} до мітохондрій, що призводило до зменшення фероптозу) [18].

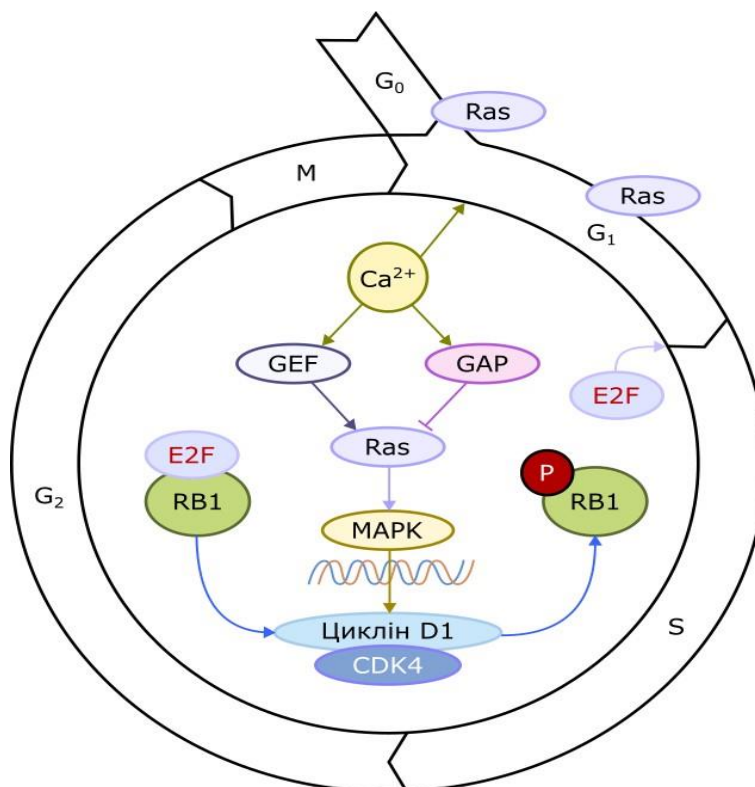


Рисунок 1 – Вплив сигналу кальцію на проліферацію через вплив на MAPK метаболічний шлях [19]

Окрім проліферації, надходження кальцію також впливає на міграцію клітин, що у випадку пухлинних клітин призводить до метастазування.

1.3 Біогенні магнітні наночастинки

Розмір біогенних магнітних наночастинок (БМН) в магнітотаксисних бактеріях (МТБ) коливається від 10 до 120 нм, утворюючи ланцюжки з десятками частинок [20–22]. Більшість кристалів БМН перевищує межу суперпарамагнітного розміру [23]. Форма кристалів БМН є чітко визначеною та характерною для конкретного штаму бактерій, включаючи кубооктаедричні, подовжені призми, подібні до наконечників стріл, зубчасті та кулеподібні [24]. Діапазон розмірів одного домену для кубооктаедричної наночастинки магнетиту становить від 47 до 55 нм [23]. Пороговий розмір переходу від однодоменного до багатодоменного стану складає близько 150–200 нм для наночастинок магнетиту, які утворюють ланцюжки, і близько 10 нм для перехідного від однодоменного до суперпарамагнітного стану [23].

Механочутливість та механорегуляція клітинної функції грають важливу роль для ендотеліальних клітин. Ендотеліальні клітини піддаються механічним силам через різні моделі напруження зсуву, внаслідок потоку крові [25]. Вони містять механосенсорні комплекси, зокрема механочутливі іонні канали, які швидко реагують на зміни механічного навантаження та розвивають адаптивні реакції для підтримки гомеостазу клітини [25].

Ендотелій судин виробляє різні молекули, такі як вазоактивні пептидні гормони, фактори росту, фактори згортання крові та молекули адгезії [26]. Ендотелій судин регулює баланс між вазоконстрикцією та вазодилатацією (розширення кровоносних судин в результаті розслаблення гладких м'язових клітин всередині стінок судин, особливо у великих венах, великих артеріях та менших артеріолах), коагуляцією та фібринолізом (при фібринолізі розщеплюється згусток фібрину у складі тромбу, фермент плазмін розрізає сітку фібрину, що призводить до утворення циркулюючих

фрагментів, які очищаються іншими протеазами або нирками та печінкою), проліферацією та апоптозом [27]. Це стимулює розробку нових методів лікування судинних захворювань, пов'язаних з дисфункцією ендотелію [25–26].

Ланцюжки БМН було виявлено в стінках капілярів, що складаються з одного шару ендотеліальних клітин [28].

Штучні магнітні наночастинки широко використовуються в медицині та вводяться через кровотік з метою потенційного лікування судинних захворювань [27]. Магнітні наночастинки можуть використовувати при хіміотерапії у складі наночастинок кремнію, що містять у собі цитотоксичний агент, для спрямування їх надходження до клітини, а також при лікуванні гіпертермією, що було продемонстровано на щурах [9].

Розмір наночастинок біогенного магнетиту в організмі людини варіюється в широкому діапазоні, від малих розмірів частинок у суперпарамагнітному стані до великих частинок діаметром 200 нм - 600 нм [29]. У мозку людини спостерігався бімодальний розподіл розмірів біогенного магнетиту, де 62 з 70 виміряних частинок мали розміри в діапазоні 10 нм - 70 нм, а 8 частинок були від 90 нм до 200 нм, середній розмір менших частинок становив 33,4 нм [29].

Концентрація магнітного матеріалу, такого як магнетит або магеміт, в органах людини, зокрема серці, селезінці та печінці, зазвичай варіюється від 13,7 нг/г до 343 нг/г, з найвищим рівнем у серцевій тканині [30]. В нормі, рівень наночастинок магнетиту у базальних гангліях людини становить від 12 до 27 нг/г вологої тканини [31]. Проте, середні значення для оболонок мозку суттєво вищі, приблизно 70 нг/г [32].

Криві ізотермічної залишкової намагніченості (IRM) показують наявність низької коерцитивної сили (опору матеріалу до зміни магнітної полярності) біогенних магнітних наночастинок у серці, селезінці та печінці людини [30]. Наприклад, коерцитивна сила біогенних магнітних

наночастинок у серці людини становить 32 мТл (320 Е) [33]. Експерименти з використанням залишкової ізотермічної намагніченості (IRM) вказують на присутність низько коерцитивної фази біогенних магнітних наночастинок у тканинах пухлини головного мозку людини, яка набуває насичення при 200-300 мТл, що вказує на наявність феримагнітних оксидів заліза, таких як магнетит та/або магеміт [34].

Кількість БМН значно збільшується в змінених тканинах під час онкологічних захворювань порівняно з нормальними тканинами [34]. Також виявлено, що у хворих на хворобу Альцгеймера кількість БМН значно перевищує рівень, що спостерігається у здорових осіб [35].

Оскільки БМН і так наявні в організмах ссавців на поверхнях плазматичних мембран, то є логічним припустити, що за наявності зовнішнього магнітного поля їх рух може призвести до деформацій тих плазматичних мембран, що може впливати на активність механочутливих каналів. Таким чином, якщо ми хочемо використовувати цю дію магнітного поля на поверхневі БМН щоб впливати на пухлинний сигнал кальцію, треба знати, які в цілому існують механочутливі канали кальцію, та чи наявні вони у цільових пухлинних клітин. Якщо ж у цільових клітин немає БМН, проте наявні механочутливі канали кальцію, можна ввести штучні магнітні наночастинок, та так саме застосувати зовнішнє магнітне поле для керування пухлинним сигналом кальцію.

Перелік механочутливих каналів кальцію наведено у таблиці 1.

Таблиця 1 – Типи іонних каналів, їх локалізація та пропускна здатність [36–41]

Клас/Тип	Локація	Функція	Активація	Пропускна здатність*
Напругозалежні канали кальцію (VGCCs):				
L-тип (тривалої дії)	Гладкі м'язи, серцеві м'язи, деякі	Збудження м'язів та кардіоміоцитів, гомеостаз Ca^{2+} у	Залежить від напруги, високий	Низька провідність ~9 пСм

	нейрони, мембрана клітини	скелетних м'язах, зв'язок збудження скорочення у серцевому м'язі, секреція гормонів (інсуліну)	пори́г активації	
N-тип (нейро ний)	Нейрони (в основному), пресинаптич на мембрана	Функціонування нейронних синапсів, вивільнення нейромедіаторів.	Залежить від напруги	Низька провідність 20 пСм (симпатичні нейрони жаби) 14.3 пСм (міотрубки скелетних м'язів кролика)
P/Q- тип	Нейрони, нейроендокр инні клітини	Регулювання вивільнення нейромедіаторів у синапсах	Залежить від напруги	Низька провідність ~9-19 пСм
R-тип	Нейрони	Регулювання вивільнення нейромедіаторів	Залежить від напруги	-
T-тип	Нейрони та мозок (в основному)	Генерація низькопорогових кальцієвих струмів, вплив на збудженість нейронів.	Залежить від напруги	Низька провідність ~7-11 пСм
Ліганд-залежні канали кальцію				
NMDA рецепт ори	Нейрони	Синаптична передача та нейромодуляція, вивільнення кальцію внаслідок зв'язування з глутаматом.	Залежить від глутамату та напруги мембрани	-
Ріанод инові	Ендоплазмат ичний ретикулум,	Вивільнення кальцію з ЕР під впливом ліганду,	Активовані рядом молекул,	Висока провідність ~90 пСм (50 мМ Ca ²⁺)

Рецептори	м'язові клітини, нейрони, експресуються в ендотеліальних клітинах	регулювання м'язової збудливості та інших процесів.	включаючи Ca^{2+} та АТФ	
IP3R	Ендоплазматичний ретикулум, експресуються в ендотеліальних клітинах	Відповідають на IP3, що викликає вивільнення кальцію з ER та регулюють клітинні функції.	Активовані IP3 та цитозольним Ca^{2+}	Висока провідність ~ 70 пСм (50 мМ Ca^{2+})
Канали, залежні від відсутності кальцію в запасах (SOCCs - Store-operated Calcium Channels)				
SOCCs	Регуляція вивільнення кальцію із запасів в ER	Активація кальцієвих каналів, зумовлена виснаженням запасів в ER (CRAC канали).	Внаслідок дефіциту Ca^{2+} у внутрішній частині клітини	
Механочутливі канали				
PIEZO	Різні типи тканин та клітин, включаючи нейрони, експресуються в ендотеліальних клітинах	Участь у виявленні та передачі сигналів механічних стимулів, ангіогенез, розвиток клапанів серця та лімфатичних судин	Механічний стрес (розтягнення мембрани)	Висока провідність $\sim 25-70$ пСм
TREK	Різні типи тканин та клітин, включаючи нейрони	Регуляція електричної активності та участь у нейронних процесах	Різні стимули, включаючи механічний стрес, pH,	Середня провідність ~ 50 пСм

			температуру та інші	
Канали транз'єнтного (короткочасного) рецепторного потенціалу (TRP - Transient Receptor Potential)				
TRPC6	Серце, нирки ендотеліальні і клітини	Регулює судинний тонус, впливає на кальцієвий обмін та сигнальні шляхи	Активується непрямим розтягненням мембрани або діагліцеролом	Низька провідність 28-37 пСм
TRPV4	Нирки, шкіра, грає важливу роль в ендотеліальних клітинах	Регуляції відповідей ендотеліальних клітин на кровотік, впливає на кальцієвий обмін	Активується механічним і стимулами, частіше температурою	Висока провідність ~60 пСм при -60 мВ, ~90-100 пСм при +60 мВ

В ендотеліальних клітинах є наступні канали: ріанодинові рецептори, IP3R, PIEZO, TREK, сімейство каналів TRP (transient receptor potential) транз'єнтних рецепторних потенціалів. Завдяки своїй провідності вони дають основний внесок в постачання кальцію в цитоплазму клітини [38–40].

- Канали K2P (двопорові доменні калієві канали). Різновид калієвих каналів, які здатні реагувати на механічні сили. Вони поширені від дріжджів до людини [42].
- OSCA / TMEM63. Зустрічаються в рослинах, мухах і ссавців і утворюють механочутливі іонні канали, які реагують на механічні стимули [43].
- PIEZO. Це сімейство збудливих іонних каналів, які безпосередньо реагують на механічні сили. PIEZO1 і PIEZO2 є двома відомими генами, що кодують ці канали, і вони грають важливу роль у клітинній механотрансдукції у ссавців [44].

- TACAN (TMEM120A, NET29 або TMP17): Цей іонний канал є висококонсервативним у хребетних тварин і відіграє роль у сприйнятті механічного болю. Він експресується в різних тканинах, зокрема в серці, нирках, товстій кишці та сенсорних нейронах гангліїв спинного корінця [45].
- Канал транз'єтного (короткочасного) рецепторного потенціалу (TRP): TRP є мультигенною надродиною іонних каналів, які можуть реагувати на механічний стрес. Вони виконують важливу роль у сприйнятті різних подразників у ссавців, та експресуються у різних частинах організму, як то в ендотеліальних клітинах [46]. TRP-канали (Transient Receptor Potential channels, «канали транз'єтного (короткочасного) рецепторного потенціалу») – група рецептор-керованих катіонних каналів, розташованих в основному у плазматичній мембрані багатьох типів клітин тварин і людини.
- Калієві канали внутрішнього випрямлення (підродина KCNJ): Ця підродина калієвих каналів знаходиться в ендотеліальних клітинах, ці канали можуть бути механочутливими, тобто реагувати на механічний стрес [44]. Каналами внутрішнього випрямлення називають такі іонні канали, якими позитивні іони легко проходять всередину клітини, але не назовні (із клітини). Для активації всіх видів каналів внутрішнього випрямлення необхідний фосфатидилінозит-4,5-дифосфат (PIP₂) [47]. Тому калієві канали внутрішнього випрямлення розглядають як ліганд-залежні іонні канали.
- Дегенерин/епітеліальні натрієві канали (DEG/ENaC): Ця підродина катіонних каналів, специфічна для тварин, також може бути механочутливою. Вони відіграють роль у багатьох фізіологічних процесах, включаючи сприйняття смаку, дотику та регуляцію водного балансу [48].

Згідно з дослідженням [28], БМН розташовані в стінках капілярів. При цьому ендотеліальні клітини містять механочутливі іонні канали, такі як TRPV4, Piezo1, та P2X4 [44]. В більших судинах, таких як артеріоли, ендотеліальні клітини контактують з нервовими закінченнями, що обумовлює нейроваскулярний контроль [49]. Крім того, перицити, що оточують ендотеліальні клітини капілярів, також можуть бути пов'язані з нервовими закінченнями та астроцитарними кінцівками [49]. Перицити грають важливу роль у нервово-судинному контролі на рівні капілярів, регулюючи діаметр судин відповідно до активності нейронів [50]. Механізми контролю включають вивільнення норадреналіну, активацію механочутливих іонних каналів та підвищення рівня катіонів кальцію (Ca^{2+}) у сусідніх ендотеліальних клітинах [51]. Концепція нейроваскулярної одиниці (NVU), яка включає ендотеліальні клітини, астроцити та нейрони, є важливою для розуміння взаємодії між цими клітинами в головному та спинному мозку [52–55].

Для того, щоб надати додаткові магнітні наночастинки, можна їх ввести у кровоток та використати зовнішнє магнітне поле, як роблять для трансфекції (треба знизити індукцію магнітного поля, щоб (біогенні / штучні) магнітні наночастинки не пробивали мембрану клітини) [56]. Крім цього, індукований пухлиною ангіогенез проходить з дефектами і структурі новоутворених судин, а саме вони є протікаючими, що змінює динаміку потоку крові у відповідних судинах, та сприяє адгезії (біогенних / штучних) магнітних наночастинок до пухлинних клітин [57].

Моделі коливання концентрації кальцію можна поділити за використанням факторів впливу на канали як без метаболізму гормонів (IP_3), та на моделі з врахуванням метаболізму гормонів (IP_3), тобто фактично моделі без врахування коливань IP_3 , та з врахуванням коливань. Моделі, що не основані на метаболізмі IP_3 , враховують напругозалежність каналів [58], ріанодинові рецептори (RyR) [59], при цьому IP_3 або має сталу

концентрацію [60], або має незначні (пасивні) коливання [61]. Відповідно, моделі, що враховують коливання концентрації IP3 у цитоплазмі, враховують значні коливання концентрацій вторинного месенджера [62]. Таким чином, моделі коливань кальцію можна розділити на моделі для збудливих клітин, та не збудливих. Для всіх тваринних клітин буде вплив IP3, у той час як для збудливих клітин ще додаються напругозалежність каналів та RyR. За фактором ймовірності моделей можна поділити на детерміністичні, та стохастичні (як модель [63]) [64].

У самому простому випадку детерміністичної моделі коливань концентрацій кальцію, необхідно визначити диференційні рівняння для змін концентрацій кальцію по часу для цитоплазми та для ендоплазматичного ретикулуму. При цьому, при переході кальцію між пулом та цитоплазмою, необхідно зазначати цей процес через протилежні зміни у іншому об'єкті, тобто при збільшенні концентрації кальцію в цитоплазмі за рахунок компартменту пулу катіонів кальцію, в цьому компартменті концентрація відповідної сполуки буде зменшуватись (за рахунок переходу до цитоплазми). При створенні моделі необхідно враховувати, що за рахунок того, що за вихід катіонів кальцію з компартменту, та надходження у компартмент, відповідають різні канали, тож відповідно і ці дихотомічні процеси будуть протікати одночасно (рисунок 2). Також можуть враховувати те, що з ендоплазматичного ретикулуму відбувається сталий вихід кальцію до цитоплазми, що лінійно залежить від концентрації (як у мінімальній моделі коливань кальцію [65]).

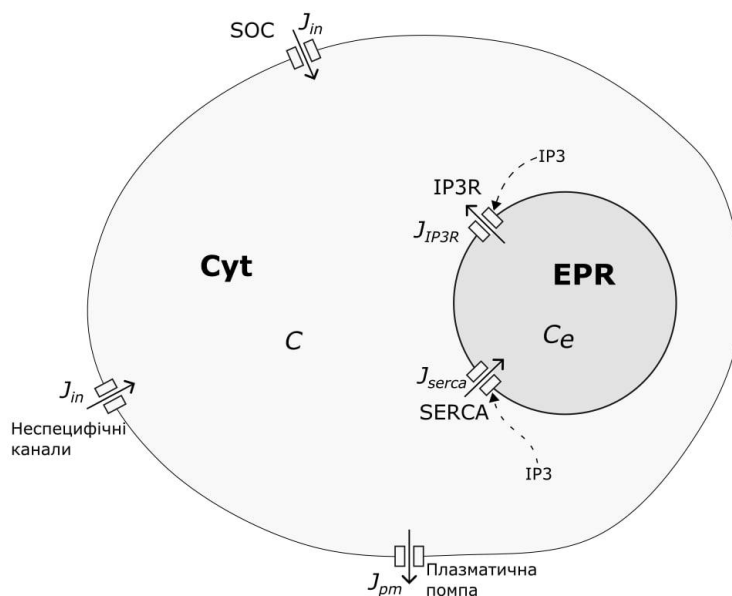


Рисунок 2 – Потоки кальцію у клітині [66]

Магнітні наночастинки на поверхні плазматичної мембрани будуть впливати на поверхневі механочутливі канали. Таким чином, режими магнітного поля, що використовують для утворення напруження зсуву, можуть бути здатними до збільшення надходження кальцію до клітин, у випадку незначної активації відповідних механочутливих каналів через напруження зсуву рідини, чи до зменшення надходження кальцію до клітини у випадку з активованими каналами при помітному напруженню зсуву рідини, яке буває у пухлинах [67]. Як видно з рисунку 2, ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) виконує роль компартменту, що містить у собі зону підвищеного вмісту Ca^{2+} , що є регульованим концентрацією IP3, а саме надходження до цитоплазми з ЕПР через IP3R, та вилучення з цитоплазми до ЕПР через SERCA [66]. Таким чином, для розрахунку коливань кальцію необхідно знати $[Ca^{2+}]$ для цитоплазми, ЕПР, та знати про концентрацію IP3, та ймовірність відкриття IP3R каналів [66].

Підсумовуючи, магнітні поля (МП) впливають на всі ланцюжки біогенних магнітних наночастинок (БМН) в органах або тканинах організму, що призводить до біологічних наслідків для капілярів та органу в цілому, зокрема, для клапанів серця. Первинна реакція організму на МП

пов'язана зі змінами активності механочутливих іонних каналів у мембранах ендотеліальних клітин, що викликаються МП. Біоінформаційний аналіз механочутливих іонних каналів у бактеріальних та людських клітинах демонструє, що ці канали можуть виконувати роль ефекторів МП та сприяти різним фізіологічним процесам на клітинному та організменному рівнях.

Терапевтичний вплив магнітного поля можна поділити на теплові та нетеплові ефекти, де теплові ефекти призводять до підвищення температури, що може призводити до термічно-залежної деполяризації та руйнування мембрани (при цьому низькочастотні МП мають нетепловий вплив) [10]. Нетеплові впливи МП включають у себе вплив на проліферацію (як то через зупинку клітинного циклу на G2/M етапі), та вплив на MAPK та NF- κ B, індукцію апоптозу та автофагії [10]. Для пояснення цього ефекту використовують теорію механізму радикальної пари (radical pair mechanism), згідно з якої чутливість білків до магнітного поля обумовлена квантовими ефектами, пов'язаними зі спіном електронів при поєднанні двох радикалів [68], проте зазвичай цей механізм не розглядають у біологічних системах, оскільки відповідний ефект є меншим за тепловий вплив, тож механізм радикальних пар розглядали лише для пояснення магніторецепції птахів [68].

Для використання математичної моделі необхідно знати про регуляцію каналів SERCA. Вони є АТФ-азами Р-типу, тобто так само як і інші канали цього типу, можуть переносити катіони в режимі високої чи низької афінності. Виконують роль енергетично-залежного транспорту катіонів кальцію для відновлення його концентрації у цитоплазмі за рахунок переміщення до сарко/ендоплазматичного ретикулуму. Фосфоламбан (PLN/PLB Phospholamban – фосфопротейн задіяний у ацетилюванні, локалізований у мембрані, мітохондрії, ендоплазматичному ретикулумі, саркоплазматичному ретикулумі) здатен до приєднання до SARCA каналу,

що призводить до PLB-SARCA комплексу, що має знижену афінність до кальцію. Руйнування цього комплексу можливе за використанням цАМФ-залежного фосфорилування PLB, що призводить до вивільнення SARCA з переведенням до високоафінного стану [69].

Згідно з дослідом [70] на барорецепторних нейронах аорти, в присутності Gd^{3+} (20 мкМ/л), що блокує механочутливі канали, 1 з 11 барорецепторів відреагувало на механічну взаємодію, тоді як при La^{3+} , що не блокує механочутливі канали, 8 з 10 нейронів дали реакцію на подразник.

Окрім безпосередньо механочутливих каналів існують й канали іншого типу, як то пуринозалежні механочутливі іонні канали. У досліді [71] встановили залежність механочутливості каналів P2X4 від концентрації АТФ в оточуючому середовищі. Таким чином, для створення математичної моделі необхідно враховувати пуринозалежні кальцієві канали.

Як видно з [71], для 100 та 250 нМ спостерігаємо пряму залежність відповіді на відповідні значення напруження зсуву. Для концентрацій у 500 нМ та для 2 мкМ спостерігаємо амплітуди відповіді, що не обумовлені P2X4, оскільки зазначені піки так само присутні на графіках з інгібуванням P2X4 при відповідних концентраціях АТФ, при чому спостерігаємо зниження реакції, що обумовлена P2X4 каналами [71]. Таким чином, за умов концентрації АТФ в оточуючому середовищі до 250 нМ, P2X4 канали будуть обумовлювати надходження Ca^{2+} до клітини, при більших концентраціях АТФ (500 нМ та більше) чутливість до напруження зсуву спадає, тож надходження Ca^{2+} за відповідних умов відбувається через невизначені АТФ-залежні канали.

1.4 Частотне декодування осциляцій внутрішньоклітинної концентрації кальцію

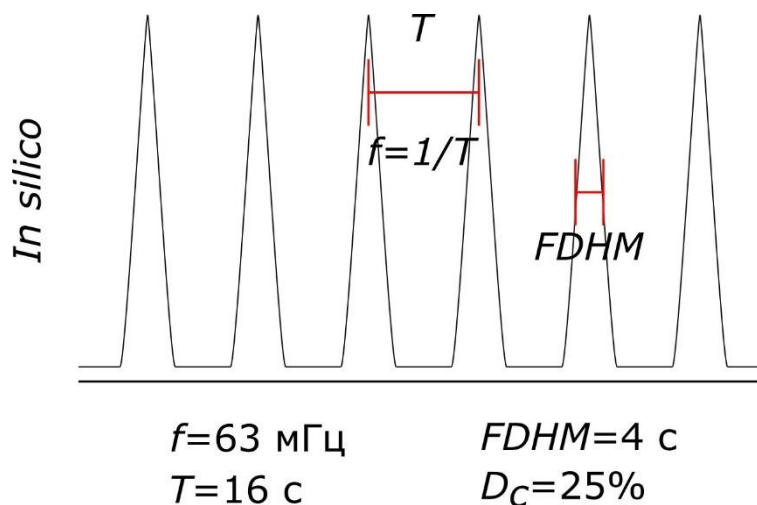


Рисунок 3 – Згенерована на комп'ютері динаміка коливань $[Ca^{2+}]$ з відповідними параметрами [12].

T – період коливань, f – частота коливань, робочий цикл (duty cycle = $FDHM/T$). $FDHM$ – full duration at half maximum, повна тривалість на половині максимальної амплітуди

Кальцій-залежні білки та ферменти є чутливими до частот коливання $[Ca^{2+}]$ та до певних робочих циклів (рисунок 3) (максимальна чутливість до частот спостерігається при робочих циклах від 0 до 0,5) [12]. Коливальні сигнали є більш ефективними в активуванні кальцій-залежних ефекторів, ніж при сталих сигналах [12]. Кальцій-залежні білки та ферменти є чутливими до специфічних вузьких діапазонів частот коливання $[Ca^{2+}]$ (рисунок 4), що обумовлено різними ролями відповідних декодуючих молекул у метаболічних шляхах організму (регуляція різних процесів при різних сигналах кальцію) [12]. Таким чином, щоб зупинити проліферацію клітин, необхідно, щоб сигнал кальцію не мав частот та робочих циклів, які б стимулювали активність кальцій-залежних білків та ферментів, які б стимулювали метаболічні шляхи, які спричиняють проліферацію.

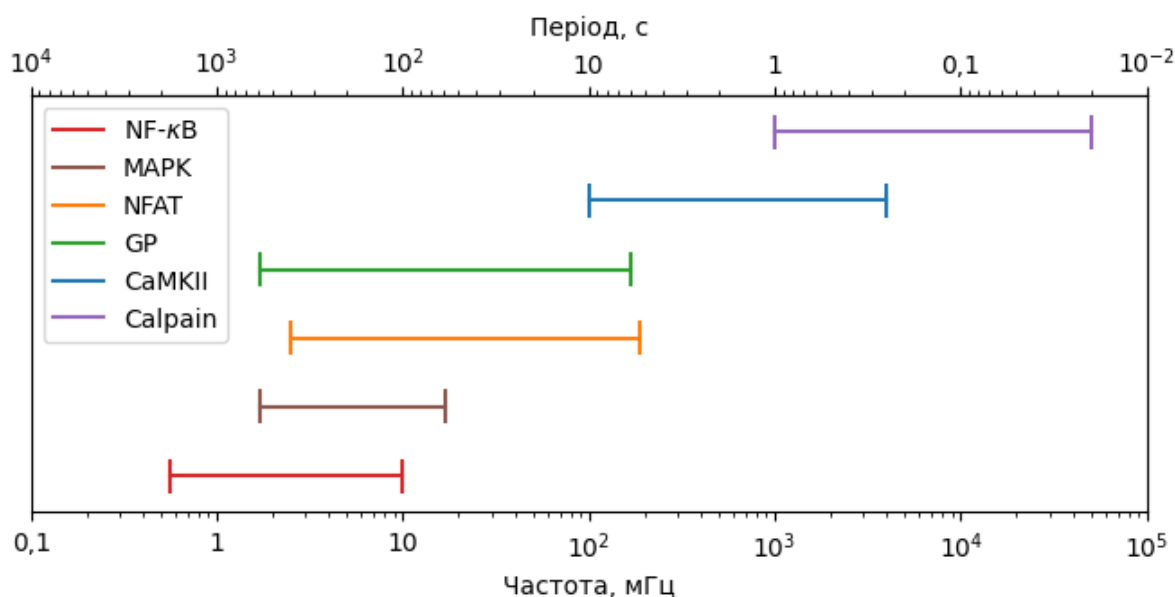


Рисунок 4 – Межі частот та періодів декодування сигналу кальцію для відповідних білків [12].

Як видно з рисунку 4, наявне значне перекриття діапазону частотного розпізнавання для NF-κB, MAPK, NFAT, та глікоген фосфорилази (GP). При цьому кальмодулін має незначне перекриття з NFAT та GP [12]. Таким чином, для повторення ефекту еріаніну [18], необхідно створити сигнал кальцію в частотному діапазоні, що буде ефективно декодовано молекулами CaMKII. Для того, щоб зупинити проходження G1/S перевірки [17], необхідно утворити сигнал кальцію, що не буде декодовано молекулами MAPK, тобто через зменшення або збільшення частоти відносно діапазону декодування. Виходячи з рисунку 4, варто збільшити частоту сигналу кальцію. Таким чином, активуючий сигнал CaMKII буде задовільняти потребі у зупинці проліферації.

Висновок до розділу

Проведено літературний огляд, згідно з яким було знайдено підтвердження позитивної кореляції між концентрацією кальцію у клітині та онкогенезом, кореляції механочутливості кальцієвих каналів та зупинки проліферації. Для впливу на пропускну здатність механочутливих каналів

кальцію можна використовувати (біогенні / штучні) магнітні наночастинки, що у зовнішньому магнітному полі утворюють напруження зсуву мембрани.

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для роботи було використане математичне моделювання за використанням системи диференціальних рівнянь, розв'язок якого для відповідних початкових умов надає значення концентрацій кальцію цитоплазми та ЕПР.

Для розв'язку було використано метод чисельного інтегрування (зі застосуванням комп'ютерної програми). Скрипт для розв'язку системи диференціальних рівнянь було написано на мові програмування python за використанням пакетів відповідної мови: numpy, scipy, та matplotlib. Пакет matplotlib було використано для візуалізації результатів математичного моделювання, тоді як пакети numpy та scipy були використані безпосередньо для розрахунків.

Для чисельного інтегрування було використано функцію `scipy.integrate.odeint`, що приймає в якості аргументів безпосередньо функцію, що повертає значення системи диференціальних рівнянь для вхідних значень (масив чи список скалярних значень), початкові значення (скалярне значення, або масив чи список скалярних значень), та час інтегрування (впорядкований масив скалярних значень, що репрезентують час у секундах). Для відповідної системи диференціальних рівнянь наведена функція не потребує додаткового калібрування (вказування значень відносної та абсолютної похибок), оскільки чисельне рішення є стабільним на проміжку інтегрування (перші 1500 секунд).

Для репрезентації математичної моделі було написано класи `CalciumModel` (репрезентує модель [66]), та `MagneticFieldParameters` (репрезентує модель [72]).

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Математична модель

Було використано модифіковану модель Chang (Чанга) [66], яка моделює сигналізацію кальцію у відповідних клітинах, що використовує модифіковану модель Plank [73] (а саме модель [72]) для симуляції впливу магнітного поля та магнітних наночастинок через надання напруження зсуву на механочутливі іонні канали. Таким чином, врахування магнітного напруження зсуву буде призводити до збільшення потоку кальцію до клітини з оточуючого середовища через плазматичну мембрану.

Основні рівняння динаміки для сигнального метаболічного шляху Ca^{2+} в моделі Chang наступні:

$$\frac{dC}{dt} = J_{IP_3R} - J_{serca} + \delta(J_{in} - J_{out}) \quad (1)$$

$$\frac{dC_e}{dt} = \gamma(J_{serca} - J_{IP_3R}) \quad (2)$$

$$\frac{dh}{dt} = (h_{\infty} - h) \left(\frac{1}{\tau_h} \right) \quad (3)$$

$$\frac{dp}{dt} = \beta_p(p_s - p) \quad (4)$$

де введено наступні динамічні змінні:

C – концентрація Ca^{2+} у цитоплазмі,

C_e – концентрація кальцію в ендоплазматичному ретикулумі,

h - швидкість активації IP_3R каналу,

p – концентрація інозитол-1,4,5-трифосфату (IP3- inositol-1,4,5-trisphosphate).

В рівняннях (1)-(4) введено наступні функції динамічних змінних:

δ – поправка для співвідношення швидкості постачання кальцію через плазматичну мембрану до мембрани ендоплазматичного ретикулуму,

γ – відношення об'єму цитоплазми до об'єму ендоплазматичного ретикулуму,

p_s – стаціонарна концентрація IP_3 ,

β_p – швидкість розкладу IP_3 , тобто швидкість з якою концентрація IP_3 прямує до стаціонарного стану p_s .

В рівняннях (1)-(4) введено наступні функції динамічних змінних:

$h_\infty = \frac{K_h^4}{K_h^4 + C^4}$, де K_h - концентрація кальцію для активації IP_3R ,

$\tau_h = \tau_{\max} \frac{K_\tau^4}{K_\tau^4 + C^4}$, де K_τ – концентрація Ca^{2+} у відповідь на активацію кальцієм IP_3R (далі β - це функція, яка моделює швидкість, з якою $[Ca^{2+}]$ активує IP_3R , при цьому функція β введена нижче при визначенні потоку кальцію через канал IP_3R , а саме J_{IP_3R}),

$\tau_{\max}$ – параметр, який контролює швидкість реакції β на зміну концентрації Ca^{2+} .

В рівняннях (1)-(4) введено наступні потоки:

$J_{serca} = \frac{V_p(c^2 - \bar{K}c_e^2)}{c^2 + k_p^2}$ – потік кальцію через SERCA канал, де V_p – максимальна пропускна здатність помпи SERCA, k_p – напівмаксимум концентрації IP_3 для IP_3R , $\bar{K}$ – поправка для концентрації кальцію в ендоплазматичному ретикулумі.

$$J_{in} = \alpha_0 + \alpha_1 \frac{K_e^4}{K_e^4 + c_e^4}$$

J_{in} - потік кальцію в клітину, α_0 – потік кальцію в цитоплазму через неспецифічні канали, $\alpha_1 \frac{K_e^4}{K_e^4 + c_e^4}$ – потік Ca^{2+} в цитоплазму, опосередкований SOCE (store-operated Ca^{2+} entry – вхід Ca^{2+} із сховища в цитоплазму), α_1 – параметр, який характеризує постійну швидкість потоку Ca^{2+} в цитоплазму, опосередкований SOCE, K_{pm} – напівмаксимальна концентрація Ca^{2+} для плазматичного мембранного насоса.

$$J_{pm} = \frac{V_{pm} c^2}{K_{pm}^2 + c^2}$$

J_{pm} - потік Ca^{2+} через насос плазматичної мембрани, V_{pm} - максимальна потужність (ємність) насоса плазматичної мембрани, K_{pm} - напівмаксимальна концентрація кальцію для насоса плазматичної мембрани,

$J_{IP_3R} = k_f P_O (C_e - C)$ - потік кальцію через канал IP_3R , де k_f - коефіцієнт масштабування, що контролює щільність IP_3R , $P_O = \frac{\beta}{\beta + k_\beta(\beta + \alpha)}$ - ймовірність відкриття IP_3R , що залежить від швидкостей активації та інактивації IP_3R , на які впливає зв'язування Ca^{2+} з IP_3 , де

$$k_\beta = 0,4$$

$$\alpha = A(1 - \bar{m}_\alpha \bar{h}_\alpha)$$

$$\beta = B \bar{m}_\beta h$$

$$\bar{m}_\alpha = \bar{m}_\beta = \frac{c^4}{K_c^4 + c^4}$$

де K_c - напівмаксимальна концентрація кальцію для IP_3R .

$$\bar{h}_\alpha = h_\infty = \frac{K_h^4}{K_h^4 + c^4}$$

де K_h - концентрація кальцію для активації IP_3R .

Ймовірність активації каналу IP_3R на вихід кальцію:

$$1 - A = B = \frac{p^2}{k_p^2 + p^2}$$

Після підстановок попередніх виразів отримуємо:

$$P_O = \frac{\frac{p^2}{k_p^2 + p^2} \frac{C^4}{K_c^4 + C^4} h}{\frac{p^2}{k_p^2 + p^2} \frac{C^4}{K_c^4 + C^4} h + k_\beta \left(\frac{p^2}{k_p^2 + p^2} \frac{C^4}{K_c^4 + C^4} h + \left(1 - \frac{p^2}{k_p^2 + p^2} \right) \left(1 - \frac{C^4}{K_c^4 + C^4} \frac{K_h^4}{K_h^4 + C^4} \right) \right)}$$

Після підстановок виразів для потоків та динамічних змінних, рівняння (1)-(4) набувають вигляду:

$$\frac{dC}{dt} = k_f \frac{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h}{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h + k_\beta \left(\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h + \left(1 - \frac{p^2}{k_p^2+p^2} \right) \left(1 - \frac{C^4}{K_c^4+C^4} \cdot \frac{K_h^4}{K_h^4+C^4} \right) \right)} (C_e - C) - \frac{V_p(C^2 - \bar{K}C_e^2)}{C^2 + k_p^2} + \delta \left(\alpha_0 + \alpha_1 \frac{K_e^4}{K_e^4 + C_e^4} - \frac{V_{pm}C^2}{K_{pm}^2 + C^2} \right) \quad (5)$$

$$\frac{dC_e}{dt} = \gamma \left(\frac{V_p(C^2 - \bar{K}C_e^2)}{C^2 + k_p^2} - k_f \frac{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h}{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h + k_\beta \left(\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h + \left(1 - \frac{p^2}{k_p^2+p^2} \right) \left(1 - \frac{C^4}{K_c^4+C^4} \cdot \frac{K_h^4}{K_h^4+C^4} \right) \right)} (C_e - C) \right) \quad (6)$$

$$\frac{dh}{dt} = \left(\frac{K_h^4}{K_h^4 + C^4} - h \right) \left(\frac{1}{\tau_{max} \frac{K_t^4}{K_t^4 + C^4}} \right) \quad (7)$$

$$\frac{dp}{dt} = \beta_p(p_s - p) \quad (8)$$

Значення параметрів, що входять до рівнянь (1)-(4) та (5)-(8) наведено у таблиці 2.

Таблиця 2 – Параметри математичної моделі [66]

Параметр моделі динаміки кальцію	Значення
Коефіцієнт масштабування вивільнення Ca^{2+} , що враховує щільність IP3R і активність каналу	$k_f = 3,9 \text{ c}^{-1}$
Максимальна потужність SERCA каналів	$V_p = 0,9 \text{ мкМ} \cdot \text{c}^{-1}$
Коефіцієнт концентрації Ca^{2+} в ЕПР	$K = 1,9 \cdot 10^{-5}$
Напівмаксимальна концентрація IP3 для IP3R	$k_p = 0,2 \text{ мкМ}$
Коефіцієнт співвідношення Ca^{2+} між плазматичною мембраною та мембраною ЕПР	$\delta = 1,5$
Потужність потоку Ca^{2+} до клітини через невизначені канали	$\alpha_0 = 2,7 \cdot 10^{-3} \text{ мкМ} \cdot \text{c}^{-1}$
Константа потужності потоку Ca^{2+} через SOC канали	$\alpha_1 = 0,385 \text{ мкМ} \cdot \text{c}^{-1}$
Напівмаксимальна концентрація Ca^{2+} в ЕПР через SOC канали	$K_e = 8 \text{ мкМ}$
Максимальна потужність насоса плазматичної мембрани	$V_{pm} = 0,11 \text{ мкМ} \cdot \text{c}^{-1}$
Напівмаксимальна концентрація Ca^{2+} для насоса плазматичної мембрани	$K_{pm} = 0,3 \text{ мкМ}$
Відношення об'ємів цитоплазми до ЕПР	$\gamma = 5,5$
Концентрація Ca^{2+} для активації IP3R	$K_h = 0,08 \text{ мкМ}$

Напівмаксимальна концентрація Ca^{2+} в IP3R каналі в залежності від β	$K_\tau = 0,1 \text{ мкМ}$
Максимальна потужність потоку Ca^{2+} через IP3R	$\tau_{\max} = 1420 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$
Швидкість розкладу IP3	$\beta_p = 27 \cdot 10^{-3} \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$
Стаціонарна концентрація IP3	$p_s = 0,1 \text{ мкМ}$
Коефіцієнт впливу вірогідностей відкриття каналів IP3R	$k_\beta = 0,40$
Напівмаксимальна концентрація Ca^{2+} для IP3R	$K_c = 0,2 \text{ мкМ}$
Початкова концентрація Ca^{2+} в цитоплазмі	$c_0 = 0,1 \text{ мкМ}$
Початкова концентрація Ca^{2+} в ЕПР	$c_{e_0} = 100 \text{ мкМ}$
Початкова потужність потоку Ca^{2+} через IP3R	$h_0 = 0,08 \text{ мкМ}$
Початкова концентрація IP3	$p_0 = 0,1 \text{ мкМ}$

Аналітично опишемо приток Ca^{2+} з використанням моделі [73], що створена для моделювання відповіді мембранних іонних каналів на напруження зсуву. Прикладення напруження зсуву призводить до утворення одновісного градієнту натягу в мембрані, та деформує її. Деформація мембрани у свою чергу характеризується щільністю енергії деформації, W , яка є залежною від прикладеного напруження зсуву. Частина іонних каналів набуває відкритого стану при дії напруження зсуву за наступною формулою:

$$f_o(\tau) = \frac{1}{1 + \alpha \exp\left(-\frac{f_e W(\tau)}{k T_e N}\right)}, \quad (9)$$

де τ – напруження зсуву мембрани (WSS – wall shear stress), N - поверхнева щільність іонних каналів, тобто кількість іонних каналів на одиницю площі клітинної мембрани, k - стала Больцмана, T_e – абсолютна температура, та α – безрозмірний коефіцієнт, при цьому $(1 + \alpha)^{-1}$ – це частка каналів, які знаходяться у відкритому стані без прикладення напруження зсуву, тобто при відсутності навантаження на мембрані ($W = 0$), зауважимо, що $(1 + \alpha)^{-1}$ змінюється в діапазоні $[0; 1]$, $f_e \in [0; 1]$ - частка енергії деформації мембрани, яка керує механочутливими каналами кальцію. Функція щільності енергії деформації мембрани при двовимірній моделі має вигляд:

$$W(\tau) = \frac{[\varepsilon' \tau l + \sqrt{16\delta^2 + \varepsilon'^2 \tau^2 l^2} - 4\delta]^2}{8[\varepsilon' \tau l + \sqrt{16\delta^2 + \varepsilon'^2 \tau^2 l^2}]}, \quad (10)$$

де ε' – частка наданого навантаження, що передається мембранним структурам, при цьому решта енергії деформації передається іншим частинам клітини, насамперед цитоскелету, δ – модуль зсуву мембрани, l - довжина клітини у напрямку напруження зсуву.

Притік кальцію є залежним від напруження зсуву, є залежним від частки відкритих каналів кальцію у плазматичній мембрані тобто від густини енергії деформації плазматичної мембрани – $W(\tau)$. Це призводить до сигмоїдної функції, яка виражає залежність між притоком кальцію та напруженням зсуву. Таким чином, наступне співвідношення характеризує притік кальцію:

$$q_{in} = \frac{q_{\max}}{1 + \alpha \exp\left(-\frac{f'_e W(\tau)}{k T_e N}\right)}, \quad (11)$$

де $q_{\max}$ – максимальна швидкість постачання кальцію в клітину через механочутливі іонні канали, якщо вони повністю відкриті при великому напруженні зсуву мембрани, ця величина є константою.

Розрахуємо напруження зсуву, яке створюється градієнтним магнітним полем при впливі на ланцюжки МНЧ на мембрані клітини τ_{magn} .

Градієнтна магнітна сила записується як $\vec{F} = N(\vec{p}_m \nabla) \vec{B}$, де $\vec{p}_m$ - магнітний момент магнітних наночастинок, N - кількість магнітних наночастинок у ланцюжку, $\vec{B}$ - індукція магнітного поля. Напруження зсуву визначаємо як $\tau_{magn} = \frac{F_\tau}{N\pi r^2}$, де F_τ - складова градієнтної магнітної сили, прикладена в площині мембрани, r - середній радіус магнітної наночастинок. Відповідно, напруження зсуву в градієнтному магнітному полі складає [72]:

$$\tau_{magn} = \frac{4rMG\sin\theta_0}{3} \cdot \cos(\omega t), \quad (12)$$

де M - намагніченість наночастинок, яка залежить від магнітного поля, $G = \left| \frac{\partial \vec{B}}{\partial z} \right|$, θ_0 - кут між $\frac{\partial \vec{B}}{\partial z}$ та нормаллю до площини мембрани, вісь z обрано вздовж напрямку $\vec{M}$ (рисунок 5). Параметр G характеризує величину градієнту магнітного поля, що описується осцилюючою гармонійною функцією, а випадок сталого градієнту описується як (12) при $\omega = 0$.

Розраховуємо напруження зсуву для (11), що виникає в однорідному магнітному полі. Розглянемо ланцюжок магнітних наночастинок, що розташовані на клітинній мембрані при дії однорідного магнітного поля (рисунок 6).

Момент магнітної сили можна визначити як векторну суму її компонентів на площині та поза площиною [72] $\vec{M}_F = \vec{M}_{F,\tau} + \vec{M}_{F,n} = [\vec{M} \times (\vec{B}_n + \vec{B}_\tau)]V$, де $V = \frac{4}{3}\pi r^3 N$, $\vec{M}_{F,n} = [\vec{M} \times \vec{B}_n]V$, $\vec{M}_{F,\tau} = [\vec{M} \times \vec{B}_\tau]V$, $\vec{B}_n = (\vec{B} \cdot \vec{n})\vec{n}$ є позаплощинними складовими індукції магнітного поля, $\vec{B}_\tau$ - площинна складова індукції магнітного поля, $|\vec{B}_\tau| = |[\vec{B} \times \vec{n}]| = B\sin\theta$; $M_{F,\tau} = MBV\sin\theta\sin\gamma$ - абсолютне значення площинної складової моменту

магнітної сили, що викликає напруження зсуву (рисунок 6) [72]. Відповідно, у випадку однорідного магнітного поля отримуємо формулу [72]:

$$\tau_{magn} = \frac{\pi}{6N} MB \sin \theta \sin \gamma \cdot \cos(\omega t), \quad (13)$$

де θ - кут між нормаллю до мембрани клітини та напрямком магнітного поля, γ - кут між площиною компонентою магнітного поля та вектором намагніченості ланцюжка магнітних наночастинок (рисунок 6). У (13) в загальному випадку індукція магнітного поля - це осцилююча гармонічна функція, у той час як магнітне поле є сталим при $\omega = 0$ [72].

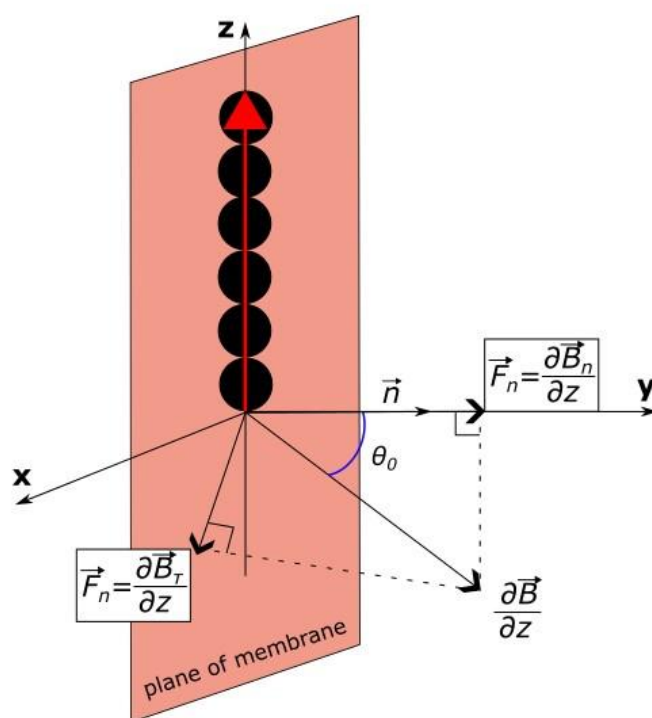


Рисунок 5 – Вплив градієнтного магнітного поля на магнітні наночастинок на поверхні мембрани [72]

Важливо зазначити, що навіть для слабкого магнітного поля, як геомагнітного поля, напруження зсуву не є малим. Як приклад, у (13) отримаємо напруження зсуву у 1,3 Па для геомагнітного поля при $B = 0,05$ мТ та $N = 10$, $r = 100$ нм, $M_s = 510$ кА/м [72].

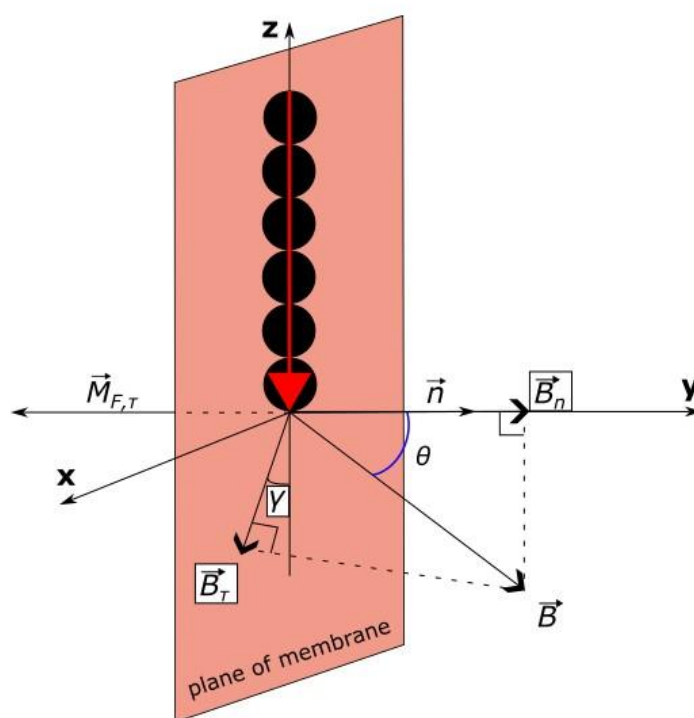


Рисунок 6 – Вплив однорідного магнітного поля на магнітні наночастинки на поверхні мембрани [72]

Врахування напруження зсуву в МП, яке діє на ланцюжки МНЧ на мембрані клітини в моделі, яка задається рівняннями (1)-(4) потребує введення в рівняння (1) цієї моделі додаткового потоку кальцію в цитоплазму, який визначається формулою (11), в якій τ_{magn} визначається згідно формули (12) або (13). Основні рівняння динаміки для сигнального метаболічного шляху Ca^{2+} в модифікованій математичній моделі Чанга з урахуванням

напруження зсуву в магнітному полі, яке діє на ланцюжки магнітних наночастинок на мембрані клітини, наступні:

$$\frac{dC}{dt} = J_{IP_3R}(C, p, h) - J_{serca} + \delta(J_{in} - J_{pm}) + J_{magn} \quad (14)$$

$$\frac{dC_e}{dt} = \gamma(J_{serca} - J_{IP_3R}) \quad (15)$$

$$\frac{dh}{dt} = (h_{\infty}(C) - h) \left(\frac{1}{\tau_h(C)} \right) \quad (16)$$

$$\frac{dp}{dt} = \beta_p(p_s - p) \quad (17)$$

В рівняннях (9)-(12) введено додатковий потік Ca^{2+} в цитоплазму через механочутливі канали, які активуються напруженням зсуву в магнітному полі, яке діє на ланцюжки магнітних наночастинок на мембрані клітини [73]. Хоча цей потік є частиною вхідного потоку, залежність від коефіцієнту масштабування γ не наявне, оскільки його вплив на значення максимального потоку не є встановленим. В результаті отримано рівняння (14)-(17) з додатковим потоком [72]:

$$J_{magn} = \frac{q_{max}}{1 + \alpha \exp\left(-\frac{f'_e W(\tau_{magn})}{kT_e N}\right)}, \quad (18)$$

де числові значення констант, що входять в формулу (18) представлено в таблиці 3 (коефіцієнт переведення безрозмірної частоти магнітного поля складає 1 Гц).

Таблиця 3 – Модифіковані параметри опису динаміки кальцію з врахуванням WSS, індукованого магнітним полем [73]

Параметр моделі динаміки кальцію	Значення
Максимум просторової похідної від індукції магнітного поля	$G_0 = 30 \text{ Тл} \cdot \text{м}^{-1}$
Індукція магнітного поля Землі	$B = 0,5 \cdot 10^{-4} \text{ Тл}$

Параметр моделі динаміки кальцію	Значення
Магнітне насичення біогенних або небіогенних магнітних наночастинок	$M_S = 510 \cdot 10^3 \text{ Ам}^{-1}$
Радіус біогенних або небіогенних магнітних наночастинок	$r = 100 \cdot 10^{-9} \text{ м}$
Максимальний притік Ca^{2+} , що індукований напруженням зсуву	$q_{\max} = 17,6 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$
Безрозмірна частота магнітного поля	$\omega = 2\pi \cdot 10^{-3}$
Кількість біогенних або небіогенних магнітних наночастинок	$N_{mn} = 10$
Модуль зсуву мембрани	$\delta_P = 10^{-5} \text{ кг} \cdot \text{с}^{-2}$ (P – індекс, який позначає, що цей параметр введено в моделі Plank)
Довжина клітини у напрямку прикладеного напруження зсуву	$l = 3,5 \cdot 10^{-5} \text{ м}$
Частка прикладеного напруження зсуву, яка припадає на плазматичну мембрану; решта напруження зсуву переходить на інші частини клітини, насамперед на цитоскелет	$\varepsilon' = 0,10$
Частка енергії деформації плазматичної мембрани, яка витрачається на керування механочутливими іонними каналами	$f_e' = 0,0134$

Параметр моделі динаміки кальцію	Значення
Температура	$T_e = 310 \text{ K}$
Поверхнева щільність каналів кальцію	$N_{ch} = 1 \cdot 10^{12} \text{ м}^{-2}$
Стала Больцмана	$k = 1,3807 \cdot 10^{-23} \text{ кг} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{с}^{-2} \cdot \text{К}^{-1}$

Після підстановок всіх виразів для функцій та потоків рівняння (14)-(17) набувають вигляду (при цьому в градієнтному магнітному полі τ_{magn} визначається згідно (12), а в однорідному – згідно (13)):

$$\frac{dC}{dt} = k_f \frac{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h(C,t)}{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h(C,t) + k_\beta \left(\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h(C,t) + \left(1 - \frac{p^2}{k_p^2+p^2} \right) \left(1 - \frac{C^4}{K_c^4+C^4} \cdot \frac{K_h^4}{K_h^4+C^4} \right) \right)} (C_e - C) - \frac{V_p(C^2 - \bar{K}C_e^2)}{C^2 + k_p^2} + \delta \left(\alpha_0 + \alpha_1 \frac{K_e^4}{K_e^4 + C_e^4} - \frac{V_{pm}C^2}{K_{pm}^2 + C^2} \right) + \frac{q_{\max}}{1 + \alpha \exp \left(-f_e \frac{\left[\varepsilon' \tau_{magn} l + \sqrt{16\delta p^2 + \varepsilon'^2 \tau_{magn}^2 l^2 - 4\delta p} \right]^2}{8kT_e N \left[\varepsilon' \tau_{magn} l + \sqrt{16\delta p^2 + \varepsilon'^2 \tau_{magn}^2 l^2} \right]} \right)} \quad (19)$$

$$\frac{dC_e}{dt} = \gamma \left(\frac{V_p(C^2 - \bar{K}C_e^2)}{C^2 + k_p^2} - k_f \frac{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h}{\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h + k_\beta \left(\frac{p^2}{k_p^2+p^2} \cdot \frac{C^4}{K_c^4+C^4} h + \left(1 - \frac{p^2}{k_p^2+p^2} \right) \left(1 - \frac{C^4}{K_c^4+C^4} \cdot \frac{K_h^4}{K_h^4+C^4} \right) \right)} (C_e - C) \right) \quad (20)$$

$$\frac{dh}{dt} = \left(\frac{K_h^4}{K_h^4 + C^4} - h \right) \left(\frac{1}{\tau_{max} \frac{K_t^4}{K_t^4 + C^4}} \right) \quad (21)$$

$$\frac{dp}{dt} = \beta_p(p_s - p) \quad (22)$$

Значення параметрів, які входять в рівняння (14)-(17) та (19)-(22) представлено в таблиці 2 та таблиці 3.

3.2 Результати математичного моделювання

Результати математичного моделювання наведено на рисунках 6–16. На рисунку 6 зображено порівняння коливань кальцію у пухлинній клітині стравоходу при відсутності магнітного поля та при обертовому магнітному полю зі магнітною індукцією у 50 мТл для цитоплазми та ЕПР відповідно.

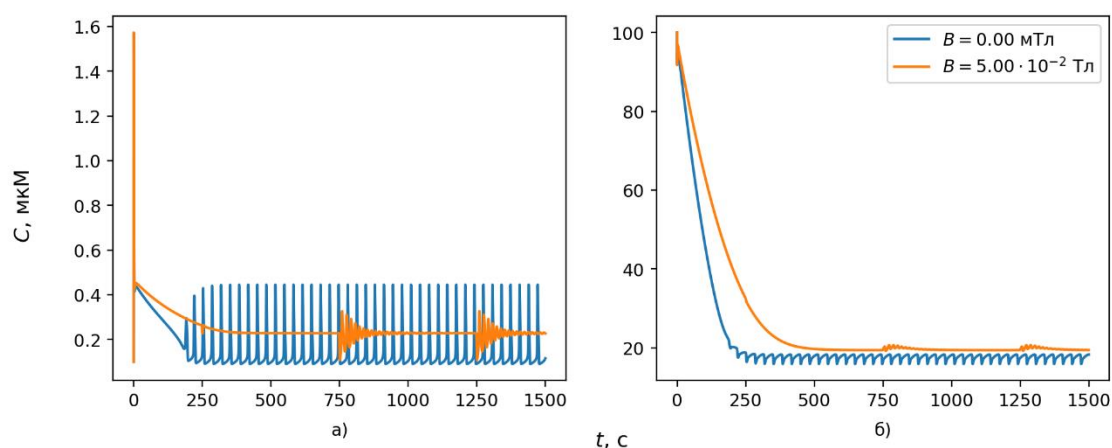


Рисунок 6 – Концентрація кальцію пухлинної клітини стравоходу при відсутності магнітного поля, та при обертовому магнітному полі з $\omega = 6,28 \cdot 10^{-3}$ Гц та $B = 50$ мТл в а) цитоплазмі та б) ЕПР.

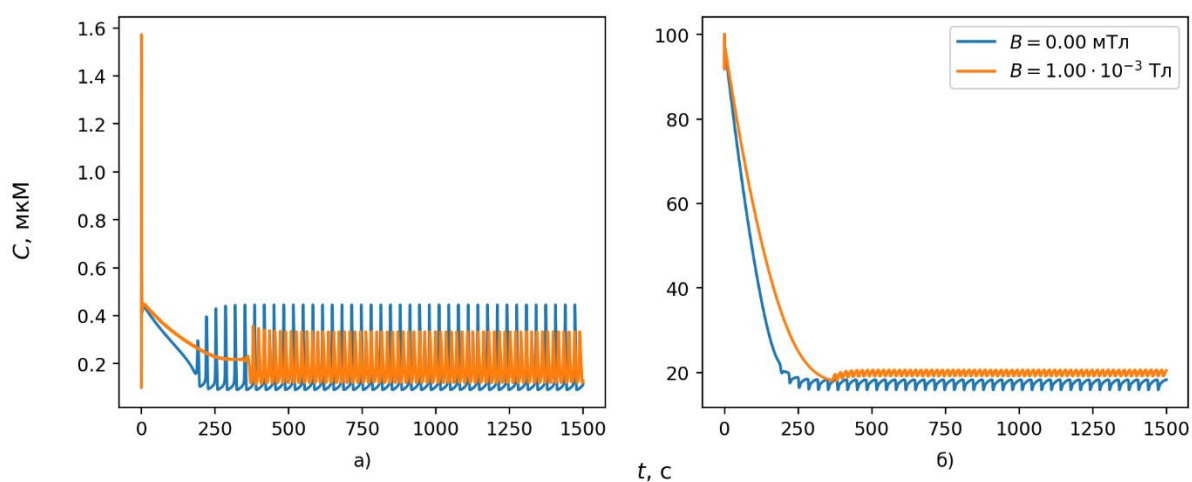


Рисунок 7 – Концентрація кальцію пухлинної клітини стравоходу при відсутності магнітного поля, та при обертовому магнітному полі з $\omega = 20$ Гц та $B = 1$ мТл в а) цитоплазмі та б) ЕПР.

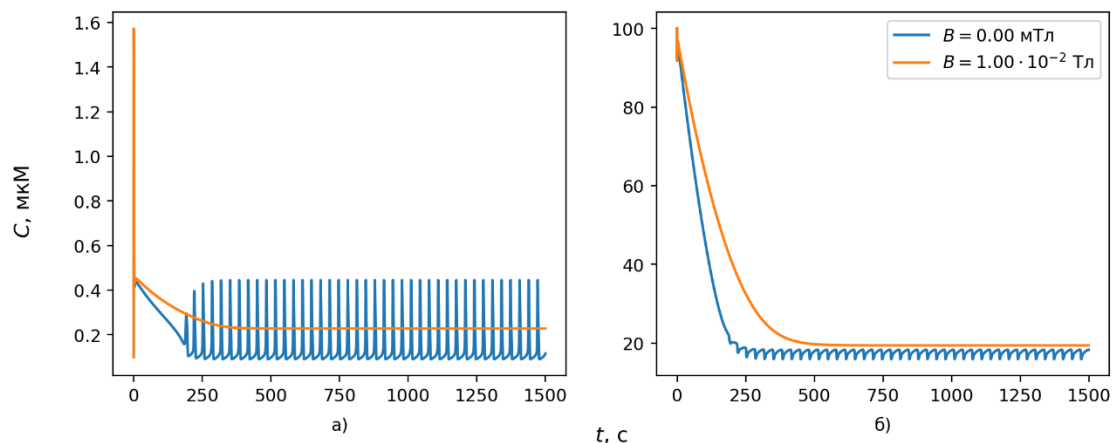


Рисунок 8 – Концентрація кальцію пухлинної клітини стравоходу при відсутності магнітного поля, та при обертовому магнітному полі з $\omega = 20$ Гц та $B = 10$ мТл в а) цитоплазмі та б) ЕПР.

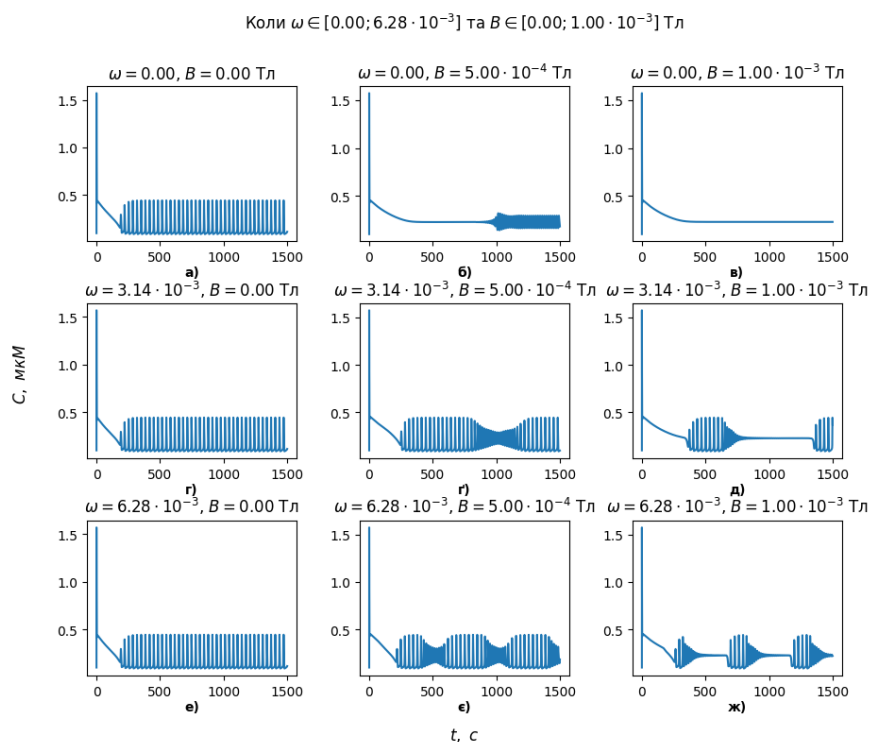


Рисунок 9 – Концентрація кальцію цитоплазми пухлинної клітини стравоходу за $\omega \in [0.00; 6.28 \cdot 10^{-3}]$ Гц та $B \in [0.00; 1.00]$ мТл.

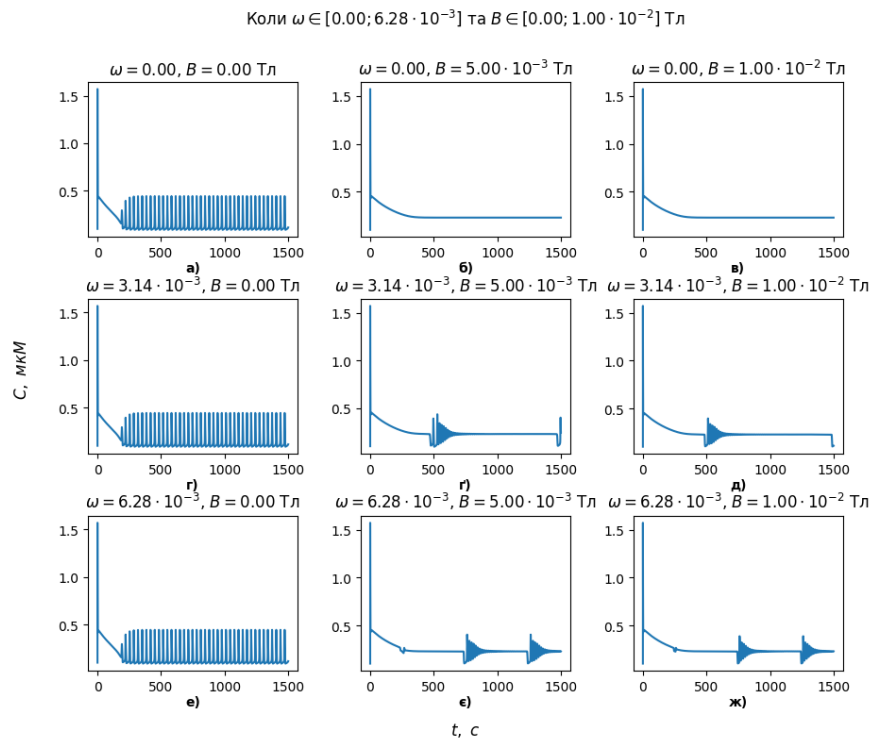


Рисунок 10 – Концентрація кальцію цитоплазми пухлинної клітини стравоходу за $\omega \in [0,00; 6,28 \cdot 10^{-3}]$ Гц та $B \in [0,00; 10,00]$ мТл.

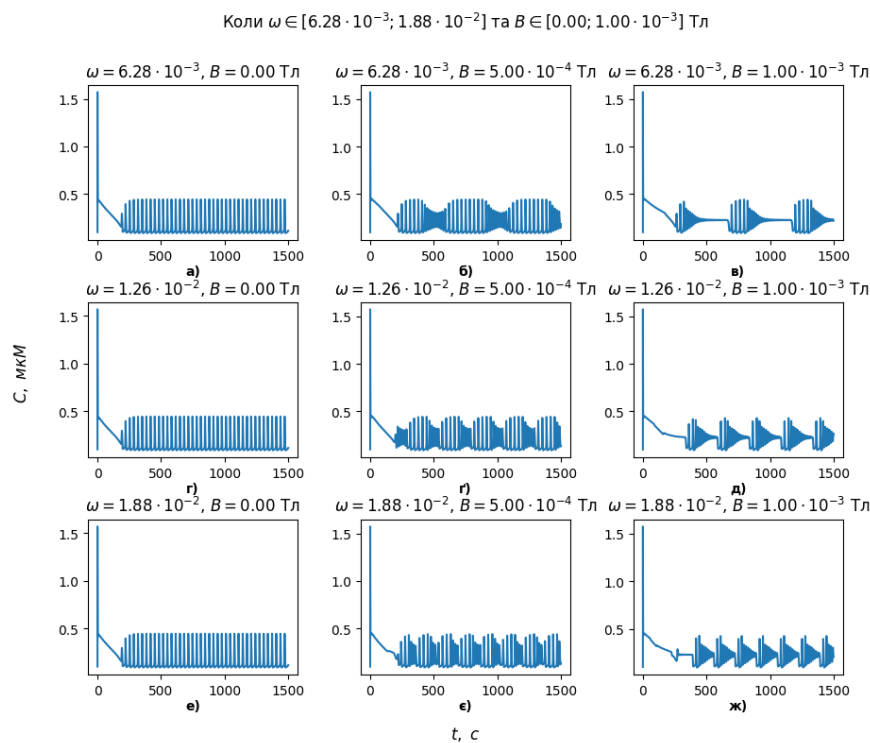
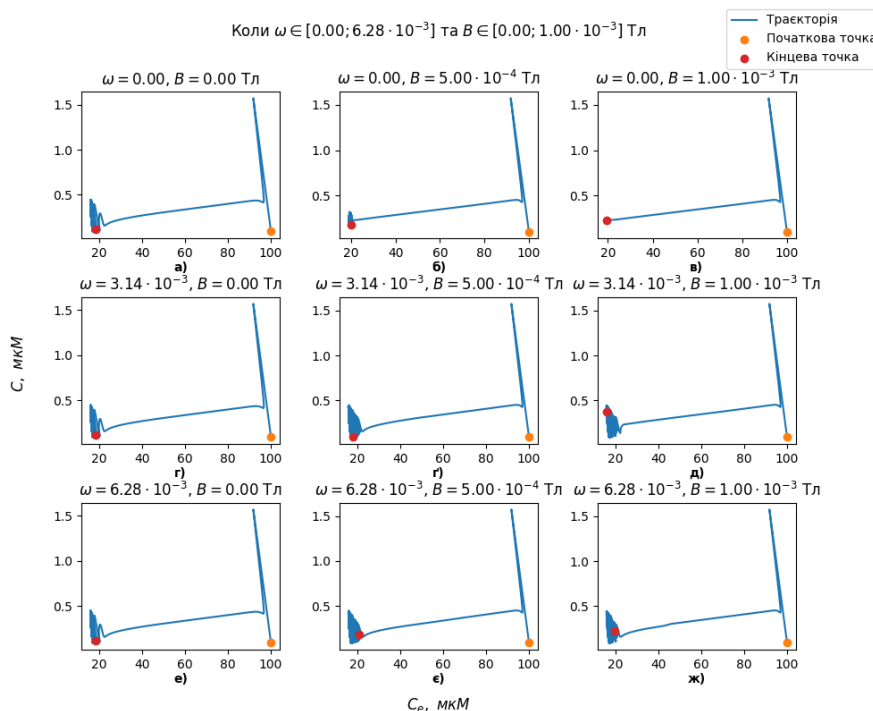
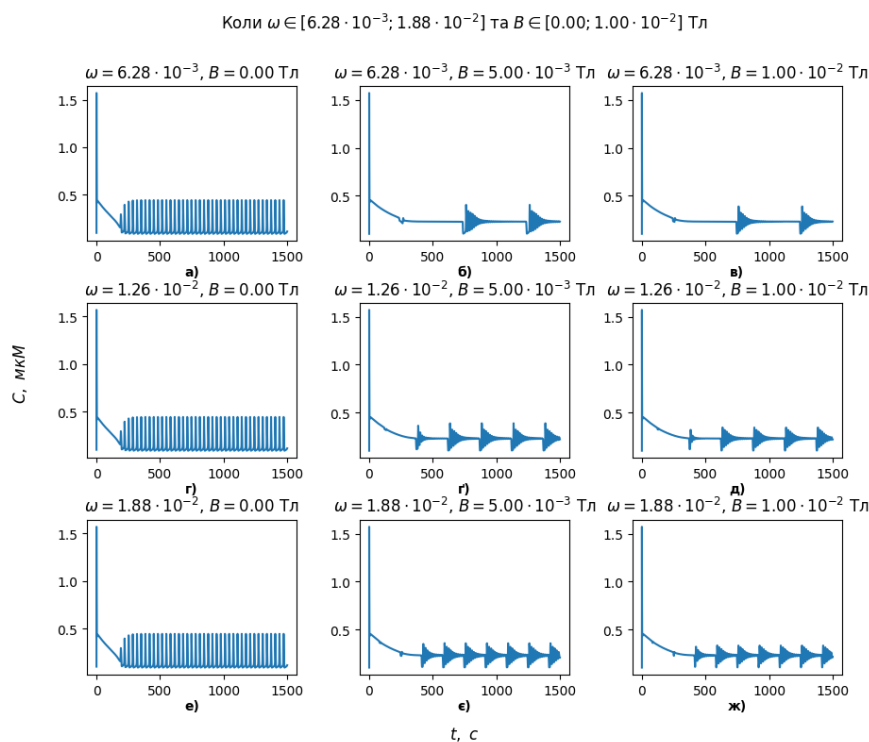


Рисунок 11 – Концентрація кальцію цитоплазми пухлинної клітини стравоходу за $\omega \in [6,28 \cdot 10^{-3}; 1,88 \cdot 10^{-2}]$ Гц та $B \in [0,00; 1,00]$ мТл.



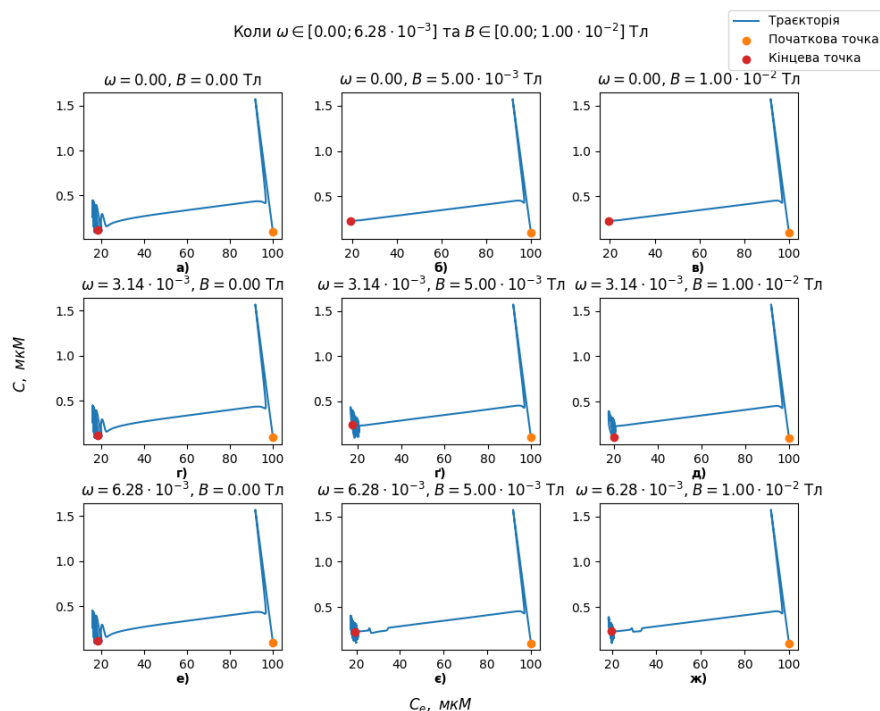


Рисунок 14 – Фазова діаграма концентрації кальцію цитоплазми та ЕПР пухлинної клітини стравоходу за $\omega \in [0.00; 6.28 \cdot 10^{-3}]$ Гц та $B \in [0.00; 10.00]$ мТл.

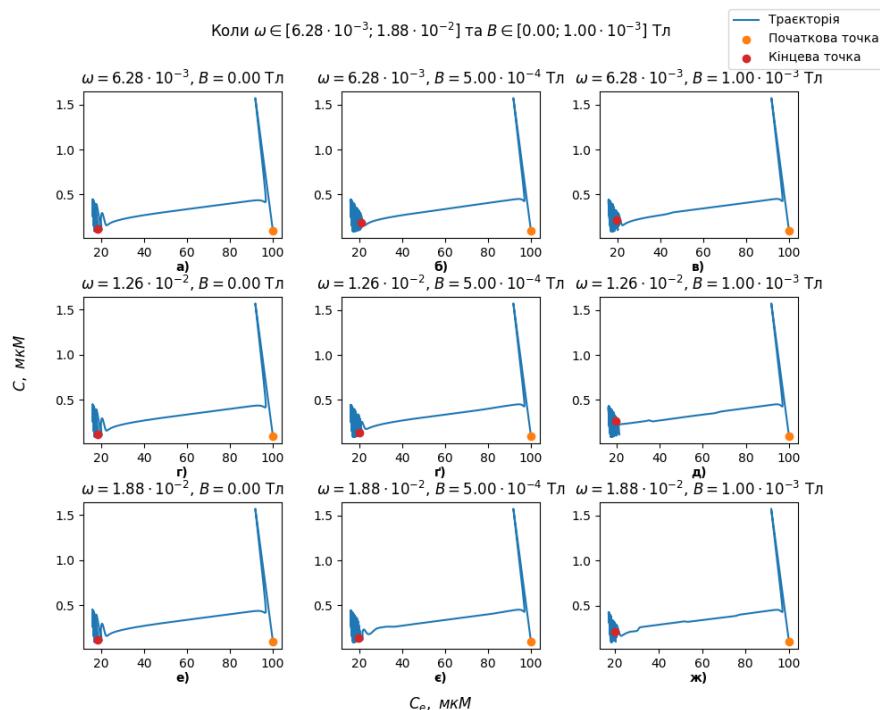


Рисунок 15 – Фазова діаграма концентрації кальцію цитоплазми та ЕПР пухлинної клітини стравоходу за $\omega \in [6.28 \cdot 10^{-3}; 1.88 \cdot 10^{-2}]$ Гц та $B \in [0.00; 1.00]$ мТл.

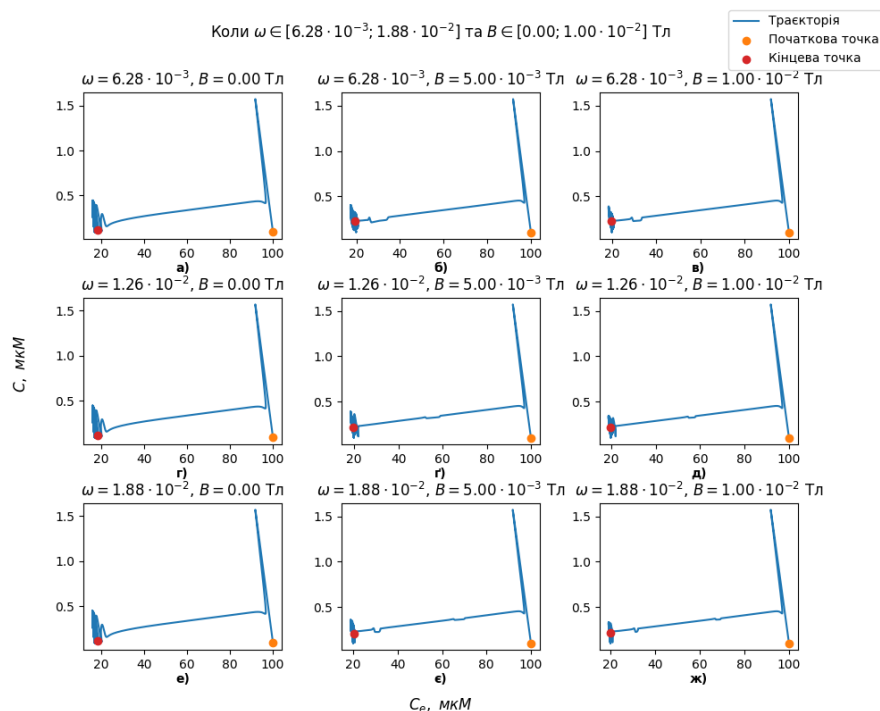


Рисунок 16 – Фазова діаграма концентрації кальцію цитоплазми та ЕПР пухлинної клітини стравоходу за $\omega \in [6,28 \cdot 10^{-3}; 1,88 \cdot 10^{-2}]$ Гц та $B \in [0,00; 10,00]$ мТл.

З рисунків 9–12 (графіки концентрації кальцію цитоплазми пухлинних клітин стравоходу) видно, що якщо магнітне поле з $B \geq 1,00 \cdot 10^{-3}$ мТл не обертається, то виходить досягти повного інгібування сигналу кальцію ракової клітини стравоходу (за відсутності надходження IP3). При цьому чим частота обертового магнітного поля негативно корелює з інгібуванням сигналу кальцію (період пакетів у сигналі негативно корелює зі частотою обертового магнітного поля).

На рисунках 13–16 зазначені фазові діаграми для концентрацій у цитоплазмі та ЕПР, відповідно до рисунків 8–11, з яких видно, що у обертовому магнітному полі з $B \geq 1,00 \cdot 10^{-3}$ мТл площа перебування значень концентрацій кальцію біля центру сідла буде меншою, ніж при відсутності магнітного поля. З рисунку 7 виходить, що за відсутності обертання магнітного поля при $B \geq 1,00 \cdot 10^{-3}$ мТл не тільки концентрація

кальцію у цитоплазмі сходиться до стаціонарної точки, а й концентрація кальцію у ЕПР.

З рисунків 7–8 (частоту обертання магнітного поля у 20 Гц взято з [11]) видно, що інгібування сигналу кальцію можливо досягти при великій частоті (різниця в 4 порядки відносно частоти з рисунку 6). Коли частота достатньо велика, вона рівномірно впливає на сигнал кальцію, без його пакетування як на рисунках 9–12. Хоч частота для раку печінки та легень якісно підійшла для гасіння коливання кальцію у моделі пухлинних клітинах стравоходу, кількісний результат не можна екстраполювати на інші типи раку, та необхідно використовувати відповідні моделі коливання концентрацій кальцію пухлинних клітин за наявності магнітних наночасинок, що впливають на механочутливі канали кальцію тих клітин. Рак стравоходу має експресію кальпаїну [74], тож отриманий режим можна розглядати як потенційний для подальших дослідженнях.

Висновок до розділу

Проведено математичне моделювання коливань концентрації кальцію у пухлинної клітині стравоходу. Проведено аналіз впливу частоти обертового магнітного поля та значень індукції відповідного магнітного поля за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок з радіусом у 100 нм, та було встановлено, що для отримання терапевтичного ефекту варто обрати значення $0,00 \leq \omega \leq 20,00$ Гц та $1,00 \leq B \leq 400,00$ мТл (доцільно брати з 10,00 мТл, якщо магнітне поле обертається). Інгібування при підвищенні частоти магнітного поля з 0 Гц на π мГц погіршується за рахунок нерівномірності впливу на сигнал. При частоті у 20,00 Гц вплив магнітного поля на сигнал є рівномірним, що призводить до повного гасіння сигналу кальцію при збільшенні індукції магнітного поля до 10,00 мТл.

4 ЕКОНОМІЧНА ЧАСТИНА

4.1 Резюме інноваційної пропозиції

Бізнес-ідея: створення приладу генерації однорідного обертового магнітного поля, яке за наявності магнітних наночастинок на поверхні мембран пухлинних клітин стравоходу пацієнта буде здатним до пригнічення проліферації та/чи індукції апоптозу відповідних клітин, що буде надавати терапевтичний ефект.

Об'єктом дослідження є сигнал кальцію пухлинних клітин стравоходу, на який можна впливати зовнішнім магнітним полем за наявності магнітних наночастинок на поверхні мембрани відповідних клітин.

Назва роботи: застосування механочутливих іонних каналів кальцію в біотехнології лікування раку

Суб'єктом замовлення є приватні клініки

Актуальність: Сучасні методи лікування раку мають багато побічних ефектів за рахунок гомології цільових каналів кальцію з іншими каналами, що обумовлює токсичність лікувальних агентів та надмірну складність у пошуку антитіл для кальцієвих каналів, які необхідно таргетувати для впливу на пухлинні клітини. Використання неінвазивного методу може призвести до зменшення побічних ефектів за рахунок локалізування впливу лікувального агенту (магнітні наночастинок у зовнішньому магнітному полі).

Мета роботи – знаходження параметрів однорідного обертового магнітного поля для отримання терапевтичного ефекту для лікування раку стравоходу за наявності магнітних наночастинок.

Продукт: апарат генерації однорідного обертового поля для терапевтичних цілей.

Технологія:

Ринок збуту: юридичні особи, що включають медичні заклади.

Таблиця 4 – Резюме інноваційної пропозиції

Показник	Характеристика
1. Сутність ідеї	Створення апарату, що створює однорідне обертове поле, що матиме терапевтичний ефект до раку стравоходу людини
2. Наявність аналогів або прототипів ідеї	TMS апарати, що створюють терапевтичне магнітне поле (https://www.magstim.com/row-en/product/200/)
3. Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Необхідність у дешевому способі лікування пухлин, онкогенез яких є асоційованим з гіперекспресією механочутливих каналів кальцію
4. Ступінь розробленості технології реалізації	Технологія не реалізована на практиці
5. Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	Клас 10 Хірургічні, медичні, стоматологічні та ветеринарні апарати та інструменти
6. КВЕД, до якого може належати дане виробництво	Секція М Професійна, наукова та технічна діяльність, Розділ 72 Наукові дослідження та розробки
7. Очікувана потужність стартапу	Мала
8. За масштабом виробництва	Одиничне
9. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне

Показник	Характеристика
10. За ресурсами, що споживатимуться	Матеріаломістке
11. За чисельністю персоналу	Мале
12. Органи управління при реалізації стартапу	Національні
13. Бажане географічне розташування - потужностей стартапу; - офісу стартапу; - збутової мережі; - постачальників комплектуючих.	Київська область
14. Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	Розробка
15. Гранична корисність ідеї стартапу	Зменшення собівартості лікування
16. Бізнес-модель стартапу	B2B
17. Конкуренти вітчизняні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Немає
18. Конкуренти іноземні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Немає

Показник	Характеристика
19. Ключові фактори успіху стартапу	Дешевизна у застосуванні та наявність терапевтичного ефекту
20. Споживачі (основні на етапі впровадження, групи, орієнтовна чисельність)	Юридичні особи (медичні заклади)
21. Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	50 од
22. Мінімальна кількість виробництва за методом точки беззбитковості	-
23. Споживачі на етапі розвитку	Юридичні особи (медичні заклади)
24. Споживачі на етапі зрілості	Юридичні особи (медичні заклади)
25. Конкурентна ціна на продукт стартапу	-
26. Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	-
27. Капіталовкладення в проєкт	-
28. Період повернення капіталовкладень у проєкт	-
29. Джерела фінансування	Внутрішні
30. Основні компоненти продукції стартапу (їх доля у готовому товарі, ступінь готовності	Мідний дріт

Показник	Характеристика
компонентів у наявному виробництві	
31. Потенційні постачальники складових компонентів розробки (виділити вітчизняних і закордонних, плановий обсяг замовлень, наявна потужність постачальника)	-
32. Планове місце реалізації результату розробки (місце, планова доля реалізації продукту через це місце)	-
33. Наявність посередників при реалізації (так, ні, орієнтовні посередники, форми оплати їх діяльності)	Відсутні
34. Методи просування результатів розробки на ринок	Особистий продаж

4.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу

У таблиці 5 наведені потенційні загрози та можливості зовнішнього середовища.

Таблиця 5 – Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

Ситуація	Загрози	Можливості
Економіка		
1. Інфляція через війну	- Необхідність у зменшенні неефективності у бізнес-процесах	+ Набуття конкурентних переваг через нижчу собівартість лікування
2. Підвищення тарифів на електроенергію	- Збільшення собівартості через енергозатрати при збірці апаратів	+ Набуття переваг на ринку через загально низьку собівартість апарату
3. Проблеми з імпортом	- Непостійність імпорту розхідників (магнітні наночастинки)	+ Зменшення конкуренції на внутрішньому ринку через збільшення цін на товари закордонних конкурентів
Політика		
1. Неможливість значної частини населення країни виїхати за кордон	- Збільшення інфляції національної валюти через зменшення довіри до неї	+ Збільшення попиту на лікувальні апарати всередині країни
Науково-технологічний прогрес		
1. Розробка нових хіміотерапевтичних протиракових засобів	- Потенційне покращення конкуруючої технології	+ Нові варіанти будуть радше значно дорожчими через необхідність відбити затрати на розробку терапевтичних агентів

Ситуація	Загрози	Можливості
2. Покращення ефективності створення магнітних полів	+ Потенційне збільшення собівартості продукції через використання нових дорогих матеріалів	+ Зменшення собівартості експлуатації апарату з новими матеріалами

У таблиці 6 наведено ключові фактори зовнішнього оперативного середовища, що можуть впливати на подальший розвиток проєкту.

Таблиця 6 – Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Фактор	Переваги	Недоліки
Конкуренти	+ Апарат з	- Нemoжливiсть
1 Покращення хіміотерапевтичних лікувальних засобів	наночастинками матиме менше побічних ефектів та	використання для лікування пухлин, онкогенез яких не є
2 Наявність апаратів, що використовують магнітне поле без додаткових розхідників	меншу вартість використання, ніж цитотоксичні лікувальні агенти + Потенційно кращий терапевтичний ефект за рахунок його стимулювання додаванням медіаторів дії магнітного поля + Апарат може працювати як у режимі	асоційованим з гіперекспресією механочутливих каналів кальцію - Необхідність у розхідниках для створення напруження зсуву мембрани, у яких немає потреби у конкурентів, що використовують просто магнітне поле

Фактор	Переваги	Недоліки
	без магнітних наночастинок, так і з ними	
Постачальники	Інноваційна пропозиція не потребує використання нових матеріалів	Необхідність у магнітних наночастинок в якості розхідника для експлуатації продукту (апарату)
Споживачі Клініки, що пропонують послуги по лікуванню пухлин	Низька собівартість апарату та лікування може зацікавити клініки у придбанні продукції	Через новизну технології мало споживачів захоче використовувати

На основі аналізів зовнішніх та оперативних чинників було виведено список зацікавлених сторін, що потребують уваги при оцінці потенційних загроз під час впровадження інноваційної розробки стартап-проєкту.

Перелік зацікавлених сторін наведено у таблиці 7.

Таблиця 7 – Аналіз зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проєкту	Цікавість її до проєкту	Загальний коефіцієнт впливу на проєкт
Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища			
Виробник			
Стартап-проєкт	5	5	5

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проєкту	Цікавість її до проєкту	Загальний коефіцієнт впливу на проєкт
Постачальник			
-	2	0	1
Споживачі			
Клініки, що пропонують послуги по лікуванню пухлин	5	3	4
Посередники			
-	-	-	-
Зовнішнє середовище			
Політичні структури			
Держава	3	0	1,5
Громадянські організації	0	0	0
Суб'єкти економічного середовища			
Кредитно-депозитні організації	1	0	0,5
Власники географічних об'єктів			
-	-	-	-
Суб'єкти демографії			

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проєкту	Цікавість її до проєкту	Загальний коефіцієнт впливу на проєкт
Приблизно 85 людей на область (4,8 випадків раку стравоходу на 100000 населення при популяції у 1,8 млн ос.)	4	4	4
Суб'єкти культурного середовища			
Медичні працівники	4	3	3,5
Суб'єкти НТП			
Наукові та конструкторські організації	3	0	1,5

Аналіз внутрішнього середовища допомагає виявити переваги та недоліки у реалізації пропозиції. Це сприяє успішному розвитку та впровадженню ідеї, а також ідентифікації можливих ризиків. Основні позитивні та негативні аспекти внутрішнього середовища відображені в таблиці 8.

Таблиця 8 – Переваги і недоліки внутрішнього середовища

	Переваги	Недоліки
--	-----------------	-----------------

Технічне забезпечення	+ Простота обслуговування обладнання + Сучасні технології + Все необхідне обладнання є у наявності	- Необхідність у електрогенераторах для праці під час відключень електроенергії
Забезпечення ресурсами	+ Наявний кваліфікований персонал	- Необхідність у магнітних наночастинках для того, щоб апарат вже міг працювати (надавати магнітні наночастинки разом з апаратом при продажі)

4.3 Визначення ключових факторів успіху проєкту

Визначення факторів успіху за методом Шонфільда. Оцінка кожної характеристики наведена в таблиці 9 та 10.

Таблиця 9 – Оцінка характеристики за методом Шонфільда

Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик		
		Магнітні наночастинки у зовнішньому магнітному полі	Магнітне поле без додаткових розхідників	Хіміотерапія
Експлуатаційна вартість	0,10	4	5	1

Характеристи ка	Коефіцієнт вагомості характеристи ки	Оцінка характеристик		
		Магнітні наночастин ки у зовнішньому у магнітному полі	Магнітне поле без додаткови х розхідників	Хіміотерап ія
Терапевтичний ефект	0,10	4	4	4
Побічні ефекти	0,20	5	5	2
Довіра до технології	0,20	4	5	4
Інвазивність втручання	0,10	4	5	2
Ясний механізм дії	0,30	5	1	4

З урахуванням коефіцієнтів вагомості характеристик визначаємо бальну оцінку кожної з характеристик для нашої продукції та для конкурентів:

Таблиця 10 – Бальна оцінка кожної характеристики для продукції та конкурентів

Характеристика:	Бальна оцінка характеристик		
	Магнітні наночастинки у зовнішньому магнітному полі	Магнітне поле без додаткових розхідників	Хіміотерапія
Експлуатаційна вартість	0,40	0,50	0,10
Терапевтичний ефект	0,40	0,40	0,40
Побічні ефекти	1,00	1,00	0,40
Довіра до технології	0,80	1,00	0,80
Інвазивність втручання	0,40	0,50	0,20
Ясний механізм дії	1,50	0,30	1,20

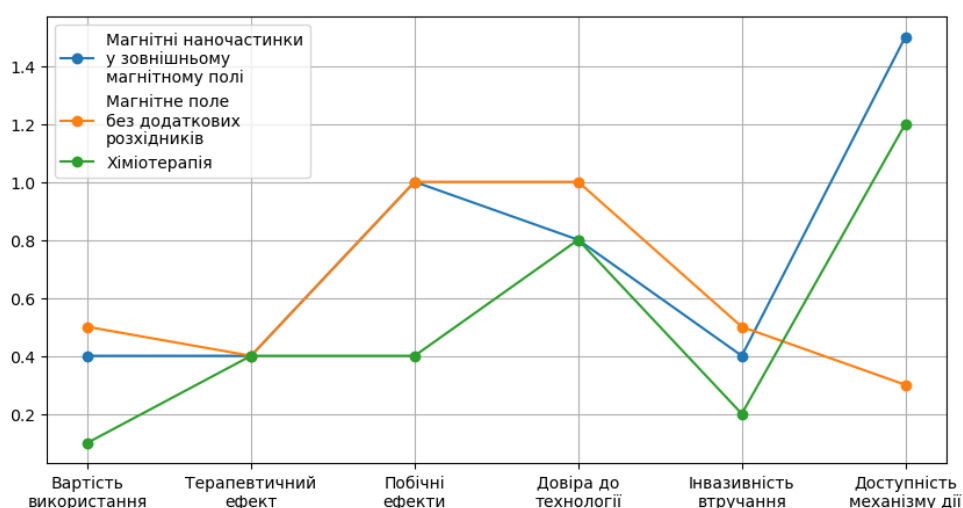


Рисунок 17 – Визначення факторів успіху методом Шонфільда

Як видно з рисунку 17, використання апарату, що діє на магнітних наночастинках у магнітному полі, дещо програє магнітним апаратам, що не

використовують додаткові розхідники, тож мають меншу інвазивність втручання (що для кінцевих споживачів лікувальних послуг є позитивним), та більшу довіру (використання магнітних наночастинок є інноваційним рішенням, що знижує довіру до них на фоні апробованих рішень), проте по іншим параметрам подібний. Це не є проблемою, оскільки апарат може працювати у обох терапевтичних режимах. Обидва варіанти з магнітним полем виглядають виграно відносно класичних хіміотерапій. Ключовим фактором успіху продукції є доступний механізм дії, по якому продукт стартапу має переваги.

В таблиці 11 наведено декілька шляхів розвитку інноваційної пропозиції.

Таблиця 11 – Варіанти розвитку ідеї стартапу

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
1. Використання більш енергоефективних матеріалів для генерації магнітного поля	Дозволить зменшити витрати на експлуатацію апарату (1500 секунд і далі), проте може збільшити собівартість самого апарату
2. Проведення досліджень щодо мінімізації робочої частоти обертання магнітного поля	Дозволить збільшити терапевтичний ефект, оскільки частота обертового однорідного магнітного поля негативно корелює з ефективністю інгібування пухлинного сигналу кальцію
3. Проведення досліджень щодо мінімізації робочої індукції магнітного поля	Дозволить зменшити собівартість використання, оскільки при збільшенні індукції магнітного поля у певний момент буде відбуватись перенасичення, тож ефект буде рости від'ємно-експоненційно (тобто поступово доходити до певного плато)

4.4 Визначення категорій потенційних споживачів

В таблиці 12 наведено перелік потенційних споживачів для інноваційної пропозиції.

Таблиця 12 – Класифікація потенціальних споживачів

Критерій	Значення
1. Юридична особа	
1. Форма власності (державне, приватне, колективне, комунальне, змішане, ...)	Приватне
2. КВЕД	КВЕД-2010: Клас 86.10
3. За потужністю (малі, середні, великі)	Середні
4. За масштабом виробництва (одиничні, серійні, масові)	Одиничне
5. За рівнем спеціалізації (вузькопрофільні, багатoproфільні, комбіновані)	Вузькопрофільне
6. За ресурсами, що споживаються (працемісткі, матеріаломісткі, капіталомісткі, інформація)	Працемістке
7. За чисельністю персоналу (малі, середні, великі)	середні
8. За сферою діяльності (виробничі, комерційні, фінансові, посередницькі, страхові...)	Комерційні
9. За приналежністю капіталу і контролю (національні, іноземні, спільні багатонаціональні,...)	Багатонаціональні
10. За географічним розташуванням	Київська область

Критерій	Значення
11. За віддаленістю органів управління (національні, міжнародні, офшорні, транснаціональні,...)	Національні
12. За характером господарської діяльності (промислові, сільськогосподарські, транспортні, будівельні, фінансово-кредитні, страхові, туристичні, консалтингові,...)	Терапевтичні
13. За рівнем технологічної цілісності (провідні, дочірні, філії,...)	Провідні
14. За долею іноземного капіталу (з іноземними інвестиціями (більше 10%), іноземне підприємство (100%)).	-
15. За формуванням статутного капіталу (унітарні, корпоративні)	Унітарне
16. За організацією виробничих процесів (періодичні, безперервні)	Періодичне
17. За роботою протягом року (сезонні, позасезонні)	Позасезонне
18. За географічним розташуванням на території України	Київська область
19. За наявністю вільних ОБЗ (коштів)	Наявні
20. За динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи: – Регіон – Чисельність населення	Київська область 1,8 млн осіб + 0,39% з 2021 до 2022

Критерій	Значення
– Динаміка росту регіону – Структура регіону – Правові обмеження торгівлі	Найбільшими містами області є Біла Церква, Бориспіль, Бровари, Ірпінь, Фастів Торгівельна діяльність у Київській області регулюється законодавством України

З таблиці 12 виходить, що потенційними споживачами будуть клініки, радше приватні, що надають послуги з лікування раку.

Для визначення потреб споживачів використовуємо метод спостереження, та вносимо у таблицю 13. Враховано як прямих споживачів (бізнеси), так і потреб клієнтів відповідних бізнесів, оскільки їх потреби впливають на бізнес-рішення прямих споживачів продукції стартапу.

Таблиця 13 – Основні групи потенційних споживачів і їх потреби

Категорія (група) клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою Вашого продукту
1. Онкохворі	Ефективне лікування бажано без значних побічних ефектів
2. Приватні клініки	Потреба у терапевтичному оснащенні з низькою собівартістю використання
3. Державні лікарні	Потреба у терапевтичному оснащенні з низькою собівартістю використання та низькою вартістю апарату
Відкорегована ідея стартап проекту	
Створення апаратури з низькою собівартістю використання, та що надає ефективне лікування пухлин	

Виходячи з таблиці 13, краще за все використовувати приватні клініки в якості перших клієнтів (провідна група клієнтів).

Для конкретизації потенційного клієнту створюємо таблицю 14.

Таблиця 14 – Паспорт потенційного клієнта

Характеристика	Значення	Примітки
Організаційно-правова форма		
Класифікація - за потужністю - за чисельністю персоналу - за обсягом виробництва - за сезонністю виробництва	Середні Середні Середні Позасезонне	-
Розташування - місто - смт - село	Біла Церква, Бориспіль, Бровари, Ірпінь, Фастів - -	Крупні міста Київського району
Вид продукту, який потрібен даному споживачеві	Медична апаратура	-
Призначення придбаної розробки - за призначенням	Лікування від раку (як то стравоходу)	-
Кваліфікація персоналу підприємства - робочі - службовці	Медичні працівники	-

- керівники		
Потенційний обсяг споживання розробки - одиниця	до 5 штук на клієнта	-
Хто приймає рішення про придбання розробки (узагальнена характеристика працівника)		-

Виходячи з таблиці 14, формуємо плановий обсяг реалізації стартап-проєкту за місяцями (за перший рік реалізації) – таблиця 15.

Таблиця 15 – Запланований обсяг реалізації стартап-продукту (товару)

	Липень, 2024	Серпень, 2024	Вересень, 2024	Жовтень, 2024	Листопад, 2024	Грудень, 2024	Січень, 2025	Лютий, 2025	Березень, 2025	Квітень, 2025	Травень, 2025	Червень, 2025
Запланований обсяг	2	2	3	3	5	5	5	5	5	5	5	5

4.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Таблиця 16 – Проєктні ціни продажу товару

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи	
	Кількість, од	Ціна, грн/од	Кількість, од	Ціна, грн/од
TMS пристрій	50	40000	-	200000

4.5.1 Метод, орієнтований на витрати

Розрахунок собівартості продукту необхідно провести для

Для складення калькуляції на готову продукцію підрахуємо річну собівартість одиниці продукції:

$$C = O\text{бз} + A$$

де A – амортизація, $O\text{бз}$ – оборотні засоби (сировина, електроенергія, заробітна плата).

Таблиця 17 – Забезпеченість проєкту основними засобами

Місце ОЗ у технологічному процесі	Повна початкова вартість ОЗ, грн	Плановий період експлуатації ОЗ, років	Амортизаційні внески, грн/рік	Джерело фінансування придбання
Ангар	500000	10	50000	Фінансові інвестиції чи банківський кредит
Обладнання для збірки	50000	5	10000	
Сума ОЗ	550000		60000	

Сумарна вартість основних фондів: $O\Phi = 550000$ грн/рік.

Величина амортизаційних відрахувань: $A = 60000$ грн/рік.

Проведемо розрахунок вартості утримання електроспоживання, таблиця 18. Станом на 2024 рік, вартість електроенергії у Київській області становить 5,18 грн/кВт · год (другий клас напруги).

Таблиця 18 – Розрахунок вартості утримання електроспоживання

Обладнання	Потужність обладнання, кВт	Час роботи, год/рік	Загальна витрата електроенергії, кВт	Загальна вартість електроенергії, грн/рік
Обладнання для збірки	6	1040	6240	32323,2

Сума витрат на електроенергію				32323,2
-------------------------------------	--	--	--	---------

До неврахованого обладнання входять витрати на освітлення, обігрів, тощо.

Таблиця 19 – Річний фонд оплати праці працівникам підприємства

Посада	К-ть штатних одиниць, осіб	Заробітна плата, грн/міс	Всього, грн/міс
Начальник цеху	1	15000	15000
Апаратник	2	10000	20000
Всього			35000

Через малі обсяги виробництва, підприємство працює раз на тиждень, в 1 зміну. Кількість робочих днів складає 130.

Фонд оплати праці визначається за формулою:

$$\text{ФОП} = 12 \cdot \text{ЗП} = 12 \cdot 35000 \cdot 1,22 = 512400 \text{ грн/рік}$$

де 12 – кількість місяців у році, 1,22 – нарахування на заробітну плату розміром у 22%.

Таблиця 20 – Калькуляція собівартості вироблення стартап-продукту

№	Калькуляція	Витрата, грн/рік	Витрата на одиницю готової продукції, грн/ од
1	Основна сировина	250000	5000
2	Вартість основних фондів	550000	11000
3	Амортизаційні витрати	60000	1200

№	Калькуляція	Витрата, грн/рік	Витрата на одиницю готової продукції, грн/од
4	Електроспоживання	32323,2	646.464
5	Заробітна плата	512400	10248
	Повна собівартість	1404723,2	28094,464

Відповідно, вартість терапевтичного апарату складатиме 28094,464 грн/од, та $Обз = 250000 + 32323,2 + 512400 = 794723,2$ грн/рік

Використаємо **витратний метод** ціноутворення:

$$Ц = С \cdot \left(1 + \frac{Н}{100}\right) = 28094,464 \cdot \left(1 + \frac{5}{100}\right) = 29499,19 \text{ грн/од}$$

де $Н = 5\%$ - фіксований відсоток прибутку, $Ц$ – прогнозована ціна товару.

4.5.2 Агрегатний метод

$$Ц = Ц_1 + Ц_2 + Ц_3 + Ц_4 + Ц_5 = 2000 + 1000 + 1000 + 1000 + 2000 = 7000 \text{ грн}$$

де $Ц_1 = 2000$ – ціна мідного дроту, $Ц_2 = 1000$ – ціна корпусу апарату, $Ц_3 = 1000$ – ціна стимулятора (генератор електричних імпульсів), $Ц_4 = 1000$ – додаткові розхідники, $Ц_5 = 2000$ – ціна збірки.

4.5.3 Параметричний метод

Таблиця 21 – Розрахунок параметричним методом

Продукт	Параметри						Ціна
	Габаритність		Тривалість на ринку		Запрограмовані режими		
	бали	коефіцієнт вагомості	бали	коефіцієнт вагомості	бали	коефіцієнт вагомості	3571,43

Аналог	50	0,2	80	0,5	20	0,3	200000
Новий	50	0,2	10	0,5	50	0,3	107143

4.5.4 Конкурентний метод

Зазвичай ціни на купівлю для звичайних користувачів ідуть від 5000 доларів (приблизно 200000 грн), тож можна поставити ціну у 150000 грн, що все ще буде нижче за ринкове значення, тож буде виглядати привабливо для потенційних покупців.

4.5.5 Метод на основі аналізу точки беззбитковості

Використаємо метод аналізу точки беззбитковості (рисунок 18), для створення якої використано проєктне значення ціни товару стартапу з таблиці 16.

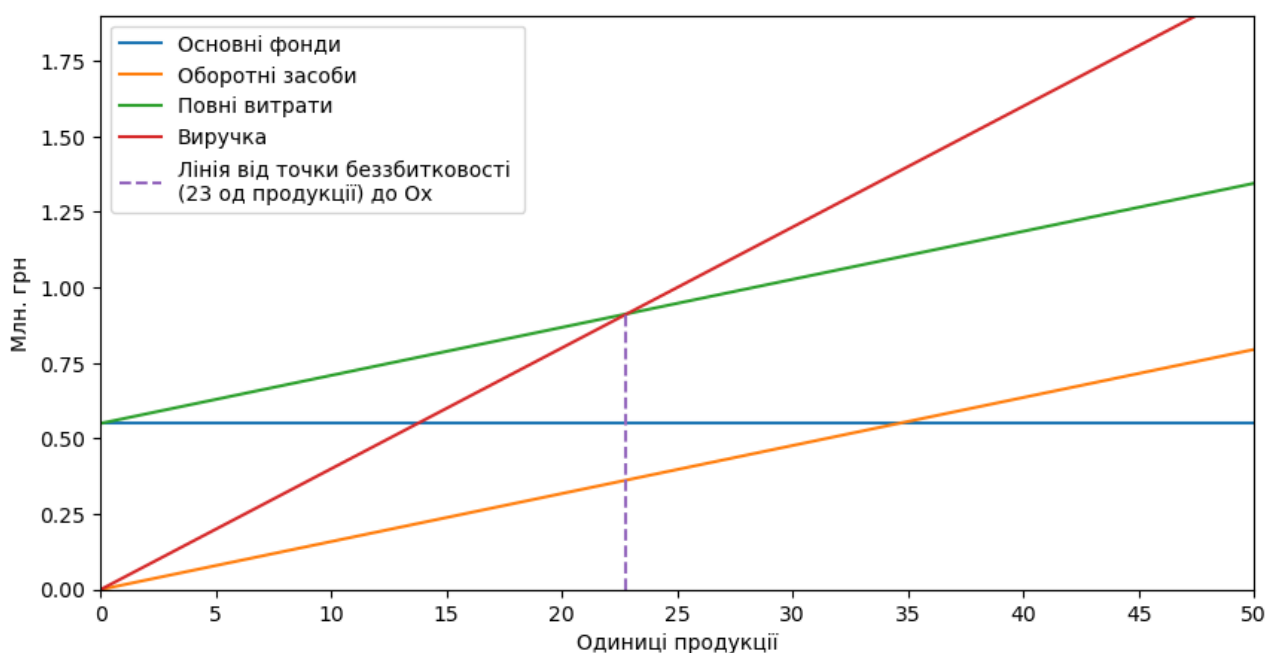


Рисунок 18 – Графік беззбитковості

Як видно з рисунку 18, для того, щоб стартап приносив прибуток, необхідно виробити 23 одиниць продукції зі 50 запланованих.

Результати розрахунку витрат наведено у таблицях 17, 22-23.

Таблиця 22 – Забезпеченість проєкту оборотними фондами

Група ОбФ	Назва	Норма витрат на рік	Ціна, грн/од	Очікуваний постачальник	Джерело фінансування
Сировина і матеріали	Сировина	50 од	5000	-	Фінансові інвестиції чи банківський кредит
Паливо, електроенергія	Електроенергія	6240 кВт	5,18	ДТЕК	

Таблиця 23 – Забезпеченість проєкту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати	Джерело фінансування ФОП
Робочі основні	Апаратник	2	Базові навички збірки	10000	Фінансові інвестиції чи банківський кредит
Керівники	Начальник цеху	1	Керування малими бригадами	15000	

Техніко-економічні показники стартап-проєкту (заключний етап в оцінці вартісних показників стартап-проєкту) наведено у таблиці 24.

Таблиця 24 – Техніко-економічні показники стартап-проєкту

Показник	Одиниця виміру	Умовне позначення	Значення
Річний випуск продукції	од	В	50
Собівартість на продукт	грн/од	С	28094,5
Чисельність персоналу	осіб	Ч	3
Загальні капіталовкладення	грн	$K = OF + OBZ$	1344723,2
Загальна собівартість	грн	$C = A + OBZ$	854723,2
Рентабельність	%	$P = (P/C) \cdot 100$	142
Фондовіддача виробничих фондів	-	$FB = (C \cdot B) / OF$	3,6

4.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Таблиця 25 – Карта бізнес-процесів виконання стартап-проекту

Назва процесу / стадії реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
Розробка ідеї стартапу	Розробка ідеї	Послуги маркетолога	2 місяці	40000 грн

Назва процесу / стадії реалізації стартап проєкту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
Реалізація ідеї	Оподаткування	Послуги юриста	2 тижні	80000 грн
	Залучення інвестицій	Час розробника	2 місяці	20000 грн
Масова реалізація	Масове виготовлення продукції	Транспортні послуги, послуги маркетолога, послуги інженера	2 місяці	500000 грн
Закриття або продаж проєкту (якщо передбачено)	-	-	-	-

На основі таблиці 25 проводимо системний аналіз бізнес-процесів стартапу (таблиця 26).

Таблиця 26 – Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи
---------	----------

	Розробник	Інженер	Водій	Вантажник	Маркетолог
Розробка ідеї	+				+
Набір команди	+				
Підготовка виробництва	+	+	+	+	
Впровадження і виробництво		+			
Масова реалізація		+	+	+	+

4.7 Ризики стартап-проєкту та методи управління ними

Таблиця 27 – Ризики інноваційної розробки

Назва процесу / стадії реалізації стартап проєкту	Бізнес-процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
Розробка ідеї стартапу	Розробка ідеї	Товарний ризик	Юридичний ризик
Реалізація ідеї	Оподаткування	Ризик ліквідності	Організаційний ризик
	Залучення інвестицій	Інвестиційний ризик	Фінансовий ризик
Масова реалізація	Масове виготовлення продукції	Ризик бізнес-подій	Виробничий ризик
Закриття або продаж проєкту	-	-	-

Назва процесу / стадії реалізації стартап проєкту	Бізнес- процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
(якщо передбачено)			

Таблиця 28 – Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат
Зовнішні ризики			
Товарний ризик	Товар не приймуть на ринку	Середня	Високий
Ризик ліквідності	Стартап не окупиться	Висока	Високий
Інвестиційний ризик	Інвестори не будуть зацікавленими	Середня	Високий
Ризик бізнес- подій	Проблеми з пошуками клієнтів	Середня	Високий
Внутрішні ризики			
Юридичний ризик	Не буде можливості продавати через необхідність перевірок	Висока	Високий

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат
Організаційний ризик	Не вийде налагодити виробничі процеси	Низька	Високий
Фінансовий ризик	Практичні витрати будуть більшими за розраховані	Середня	Середній
Виробничий ризик	Швидкість виробництва не задовільнить потреби ринку	Середня	Низький

Групуємо всі ризики, визначені у таблиці 28, у таблиці 29 у вигляді матриці.

Таблиця 29 – Матриця оцінки ризиків

За впливом ризиків на очікуваний результат		За ймовірністю настання		
Критерій ризику	Числове значення	Низька ймовірність	Середня ймовірність	Висока ймовірність
		1	5	2
Високий рівень впливу	6	6	30	12

За впливом ризиків на очікуваний результат		За ймовірністю настання		
Критерій ризику	Числове значення	Низька ймовірність	Середня ймовірність	Висока ймовірність
		1	5	2
Середній рівень впливу	1	1	5	2
Низький рівень впливу	1	1	5	2

З таблиці 29 виходить, що стартап є ризиковим (червона зона – 44 бали, жовта зона – 13 балів, зелена зона – 7 балів). Для червоної та жовтої зон пропонуємо методи управління ними у таблиці 30.

Таблиця 30 – План заходів управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання / застосування методу	Очікування результатів від впровадження методів управління
Не вийде налагодити виробничі процеси	Попередження	Стартап	Місяць	Налагодження виробничих процесів

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання / застосування методу	Очікування результатів від впровадження методів управління
Товар не приймуть на ринку	Прийняття ризику	Стартап	Два місяці	У разі неприйняття товару – замороження діяльності стартапу зі звільненням працівників
Інвестори не будуть зацікавлені ми	Прийняття ризику	Стартап	Два місяці	Наявність резервів на двомісячну працю стартапу без інвестицій
Проблеми з пошуками клієнтів	Прийняття ризику	Стартап	Два місяці	Про товар буде відомо платноздатним потенційним клієнтам
Практичні витрати	Попередження	Стартап	Місяць	Перерозрахунок витрат з

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання / застосування методу	Очікування результатів від впровадження методів управління
будуть більшими за розраховані				врахуванням дійсного становища
Стартап не окупиться	Попередження	Стартап	Два місяці	Повернення прибутковості
Не буде можливості продавати через необхідність перевірок	Попередження	Стартап	Два місяці	Отримка необхідного ліцензування

З таблиці 30 виходить, що також необхідно мати достатньо заощаджень, щоб стартап міг ще два місяці пропрацювати без прибутку, в іншому випадку – заморозка бізнесу зі звільненням всього персоналу.

Висновки до розділу

Розроблено стартап проєкт, точка беззбитковості якого становить 23 одиниць продукції (апарат з генерації однорідного обертового магнітного поля) з 50 запланованих на перший рік, загальні капіталовкладення складають 1344723,2 грн, собівартість продукту – 28094,5 грн, загальна собівартість – 854723,2 грн, рентабельність – 142%, фондівіддача виробничих фондів – 3,6 разів. Верхня межа вартості виконання стартап-проєкту складає 640000 грн. Стартап є ризиковим, тож план заходів

управління ризиками має крайній період виконання у 2 місяці з моменту виникнення проблем, щоб не втратити забагато коштів у випадку невдачі стартапу.

ВИСНОВКИ

Проведено літературний огляд, згідно з яким було знайдено підтвердження позитивної кореляції між концентрацією кальцію у клітині та онкогенезом, кореляції механочутливості кальцієвих каналів та зупинки проліферації. Для впливу на пропускну здатність механочутливих каналів кальцію можна використовувати (біогенні / штучні) магнітні наночастинки, що у зовнішньому магнітному полі утворюють напруження зсуву мембрани.

Проведено математичне моделювання коливань концентрації кальцію у пухлинній клітині стравоходу. Проведено аналіз впливу частоти обертового магнітного поля та значень індукції відповідного магнітного поля за наявності (біогенних / штучних) магнітних наночастинок з радіусом у 100 нм, та було встановлено, що для отримання терапевтичного ефекту варто обрати значення $0,00 \leq \omega \leq 20,00$ Гц та $1,00 \leq B \leq 400,00$ мТл (доцільно брати з 10,00 мТл, якщо магнітне поле обертається). Інгібування при підвищенні частоти магнітного поля з 0 Гц на мГц погіршується за рахунок нерівномірності впливу на сигнал. При частоті у 20,00 Гц вплив магнітного поля на сигнал є рівномірним, що призводить до повного гасіння сигналу кальцію при збільшенні індукції магнітного поля до 10,00 мТл.

Розроблено стартап проєкт, точка беззбитковості якого становить 23 одиниць продукції (апарат з генерації однорідного обертового магнітного поля) з 50 запланованих на перший рік, загальні капіталовкладення складають 1344723,2 грн, собівартість продукту – 28094,5 грн, загальна собівартість – 854723,2 грн, рентабельність – 142%, фондівіддача виробничих фондів – 3,6 разів. Верхня межа вартості виконання стартап проєкту складає 640000 грн. Стартап є ризиковим, тож план заходів управління ризиками має крайній період виконання у 2 місяці з моменту виникнення проблем, щоб не втратити забагато коштів у випадку невдачі стартапу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Stewart T. A., Yapa K. T. D. S., Monteith G. R. Altered calcium signaling in cancer cells. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - biomembranes*. 2015. Vol. 1848, no. 10. P. 2502–2511. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.08.016>.
2. Mechanosensitive ion channels push cancer progression / Z. Pethő et al. *Cell calcium*. 2019. Vol. 80. P. 79–90. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.03.007>.
3. Hutchings C. J., Colussi P., Clark T. G. Ion channels as therapeutic antibody targets. *MAbs*. 2018. Vol. 11, no. 2. P. 265–296. URL: <https://doi.org/10.1080/19420862.2018.1548232>.
4. Wang K., Tepper J. E. Radiation therapy-associated toxicity: etiology, management, and prevention. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021. Vol. 71, no. 5. P. 437–454. URL: <https://doi.org/10.3322/caac.21689>.
5. Bashraheel S. S., Domling A., Goda S. K. Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2020. Vol. 125. P. 110009. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110009>.
6. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives / L. Zhong et al. *Signal transduction and targeted therapy*. 2021. Vol. 6, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00572-w>.
7. P2X7 in cancer: from molecular mechanisms to therapeutics / R. Lara et al. *Frontiers in pharmacology*. 2020. Vol. 11. URL: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00793>.
8. Matyśniak D., Oslislok M., Pomorski P. P2X7 receptor in normal and cancer cells in the perspective of nucleotide signaling. *Acta biochimica polonica*. 2022. URL: https://doi.org/10.18388/abp.2020_6310.
9. Targeted destruction of cancer stem cells using multifunctional magnetic nanoparticles that enable combined hyperthermia and chemotherapy / D. Liu et

al. *Theranostics*. 2020. Vol. 10, no. 3. P. 1181–1196. URL: <https://doi.org/10.7150/thno.38989>.

10. Progressive study on the non-thermal effects of magnetic field therapy in oncology / A. Xu et al. *Frontiers in oncology*. 2021. Vol. 11. URL: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.638146>.

11. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on the tumor cell inhibition and the possible mechanism / J. Sun et al. *Scientific reports*. 2023. Vol. 13, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34144-5>.

12. Smedler E., Uhlén P. Frequency decoding of calcium oscillations. *Biochimica et biophysica acta (BBA) - general subjects*. 2014. Vol. 1840, no. 3. P. 964–969. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.11.015>.

13. Low frequency magnetic fields induce autophagy-associated cell death in lung cancer through mir-486-mediated inhibition of akt/mtor signaling pathway / Y. Xu et al. *Scientific reports*. 2017. Vol. 7, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10407-w>.

14. Calpain-2 enhances non-small cell lung cancer progression and chemoresistance to paclitaxel via egfr-pakt pathway / F. Xu et al. *International journal of biological sciences*. 2019. Vol. 15, no. 1. P. 127–137. URL: <https://doi.org/10.7150/ijbs.28834>.

15. Evaluation of tumor treatment of magnetic nanoparticles driven by extremely low frequency magnetic field / W. Li et al. *Scientific reports*. 2017. Vol. 7, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/srep46287>.

16. Roderick H. L., Cook S. J. Ca²⁺ signalling checkpoints in cancer: remodelling Ca²⁺ for cancer cell proliferation and survival. *Nature reviews cancer*. 2008. Vol. 8, no. 5. P. 361–375. URL: <https://doi.org/10.1038/nrc2374>.

17. Cook S. J., Lockyer P. J. Recent advances in Ca²⁺-dependent Ras regulation and cell proliferation. *Cell calcium*. 2006. Vol. 39, no. 2. P. 101–112. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2005.10.014>.

18. Erianin, a novel dibenzyl compound in *Dendrobium* extract, inhibits lung cancer cell growth and migration via calcium/calmodulin-dependent ferroptosis / P. Chen et al. *Signal transduction and targeted therapy*. 2020. Vol. 5, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0149-3>.

19. A temporal examination of calcium signaling in cancer- from tumorigenesis, to immune evasion, and metastasis / M. Xu et al. *Cell & bioscience*. 2018. Vol. 8, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s13578-018-0223-5>.

20. Blakemore R. Magnetotactic bacteria. *Science*. 1975. Vol. 190, no. 4212. P. 377–379. URL: <https://doi.org/10.1126/science.170679>.

21. Bazylnski D. A., Frankel R. B. Magnetosome formation in prokaryotes. *Nature reviews microbiology*. 2004. Vol. 2, no. 3. P. 217–230. URL: <https://doi.org/10.1038/nrmicro842>.

22. Enzymatic iron oxidation and reduction in magnetite synthesizing magnetospirillum magnetotacticum / Y. Fukumori et al. *Le journal de physique IV*. 1997. Vol. 07, no. C1. P. C1–659–C1–662. URL: <https://doi.org/10.1051/jp4:19971270>.

23. Newell A. J. Transition to superparamagnetism in chains of magnetosome crystals. *Geochemistry, geophysics, geosystems*. 2009. Vol. 10, no. 11. P. n/a. URL: <https://doi.org/10.1029/2009gc002538>.

24. Spring S., Bazylnski D. A. Magnetotactic bacteria. The prokaryotes. New York, NY, 2006. P. 842–862. URL: https://doi.org/10.1007/0-387-30742-7_26.

25. Fang Y., Wu D., Birukov K. G. Mechanosensing and mechanoregulation of endothelial cell functions. *Comprehensive physiology*. Wiley. 2019, P. 873–904. URL: <https://doi.org/10.1002/cphy.c180020>.

26. Baumgartner-Parzer S., Waldhäusl W. The endothelium as a metabolic and endocrine organ: its relation with insulin resistance. *Experimental and*

clinical endocrinology & diabetes. 2001. Vol. 109, Suppl 2. P. S166–S179. URL: <https://doi.org/10.1055/s-2001-18579>.

27. Magnetic nanoparticles in biomedical applications: a review / E. M. Materón et al. Applied surface science advances. 2021. Vol. 6. P. 100163. URL: <https://doi.org/10.1016/j.apsadv.2021.100163>.

28. Chain-like structures of biogenic and nonbiogenic magnetic nanoparticles in vascular tissues / S. Gorobets et al. Bioelectromagnetics. 2022. Vol. 43, no. 2. P. 119–143. URL: <https://doi.org/10.1002/bem.22390> (date of access: 03.06.2024).

29. Magnetite pollution nanoparticles in the human brain / B. A. Maher et al. Proceedings of the national academy of sciences. 2016. Vol. 113, no. 39. P. 10797–10801. URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.1605941113>.

30. Grassi-Schultheiss P. P., Heller F., Dobson J. Analysis of magnetic material in the human heart, spleen and liver. Biometals. 1997. Vol. 10, no. 4. P. 351–355. URL: <https://doi.org/10.1023/a:1018340920329> (date of access: 02.06.2024).

31. Preliminary observation of elevated levels of nanocrystalline iron oxide in the basal ganglia of neuroferritinopathy patients / D. Hautot et al. Biochimica et biophysica acta (BBA) - molecular basis of disease. 2007. Vol. 1772, no. 1. P. 21–25. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.09.011>.

32. Kirschvink J. L., Kobayashi-Kirschvink A., Woodford B. J. Magnetite biomineralization in the human brain. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1992. Vol. 89, no. 16. P. 7683–7687. URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.89.16.7683>.

33. Magnetoreception and biomineralization of magnetite in cetaceans / G. B. Bauer et al. Topics in geobiology. Boston, MA, 1985. P. 489–507. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0313-8_24.

34. Low temperature magnetic analysis in the identification of iron compounds from human brain tumour tissue / F. Brem et al. Journal of physics:

conference series. 2005. Vol. 17. P. 61–64. URL: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/17/1/010>.

35. Preliminary evaluation of nanoscale biogenic magnetite in Alzheimer's disease brain tissue / D. Hautot et al. Proceedings of the royal society of london. series B: biological sciences. 2003. Vol. 270, suppl_1. URL: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0012>.

36. Kostyuk P. G. Diversity of calcium ion channels in cellular membranes. Neuroscience. 1989. Vol. 28, no. 2. P. 253–261. URL: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90177-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90177-2).

37. Dynamic compartmentalization of calcium channel signalling in neurons / M. Heine et al. Neuropharmacology. 2020. Vol. 169. P. 107556. URL: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.02.038>.

38. Physiological modulation of voltage-dependent inactivation in the cardiac muscle L-type calcium channel: a modelling study / I. Findlay et al. Progress in biophysics and molecular biology. 2008. Vol. 96, no. 1-3. P. 482–498. URL: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.07.002>.

39. Alexander S., Mathie A., Peters J. Ion channels. British journal of pharmacology. 2011. Vol. 164. P. S137–S174. URL: https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01649_5.x.

40. Mechanosensitive channels: feeling tension in a world under pressure / R. Peyronnet et al. Frontiers in plant science. 2014. Vol. 5. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00558>.

41. International union of pharmacology. XLVIII. nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels / W. A. Catterall et al. Pharmacological reviews. 2005. Vol. 57, no. 4. P. 411–425. URL: <https://doi.org/10.1124/pr.57.4.5>.

42. Braun A. P. Two-pore domain potassium channels. Channels. 2012. Vol. 6, no. 3. P. 139–140. URL: <https://doi.org/10.4161/chan.20973>.

43. OSCA/TMEM63 are an evolutionarily conserved family of mechanically activated ion channels / S. E. Murthy et al. *ELife*. 2018. Vol. 7. URL: <https://doi.org/10.7554/elife.41844>.

44. Gerhold K. A., Schwartz M. A. Ion channels in endothelial responses to fluid shear stress. *Physiology*. 2016. Vol. 31, no. 5. P. 359–369. URL: <https://doi.org/10.1152/physiol.00007.2016>.

45. TACAN is an ion channel involved in sensing mechanical pain / L. Beaulieu-Laroche et al. *Cell*. 2020. Vol. 180, no. 5. P. 956–967.e17. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.033>.

46. Nilius B., Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels. *Genome biology*. 2011. Vol. 12, no. 3. P. 218. URL: <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-3-218>.

47. Tucker S. J., Baukrowitz T. How highly charged anionic lipids bind and regulate ion channels. *Journal of general physiology*. 2008. Vol. 131, no. 5. P. 431–438. URL: <https://doi.org/10.1085/jgp.200709936>.

48. Ben-Shahar Y. Sensory functions for degenerin/epithelial sodium channels (deg/enac). *Advances in genetics*. 2011. P. 1–26. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-386481-9.00001-8>.

49. Rennels M. L., Gregory T. F., Fujimoto K. Innervation of capillaries by local neurons in the cat hypothalamus: a light microscopic study with horseradish peroxidase. *Journal of cerebral blood flow & metabolism*. 1983. Vol. 3, no. 4. P. 535–542. URL: <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1983.82>.

50. Hamilton N. B. Pericyte-mediated regulation of capillary diameter: a component of neurovascular coupling in health and disease. *Frontiers in neuroenergetics*. 2010. Vol. 2. URL: <https://doi.org/10.3389/fnene.2010.00005>.

51. Dora K. A. Cell-cell communication in the vessel wall. *Vascular medicine*. 2001. Vol. 6, no. 1. P. 43–50. URL: <https://doi.org/10.1191/135886301666458055>.

52. Andreone B. J., Lacoste B., Gu C. Neuronal and vascular interactions. *Annual review of neuroscience*. 2015. Vol. 38, no. 1. P. 25–46. URL: <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071714-033835>.

53. The neurovascular unit: effects of brain insults during the perinatal period / A. H. Bell et al. *Frontiers in neuroscience*. 2020. Vol. 13. URL: <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01452>.

54. Muoio V., Persson P. B., Sendeski M. M. The neurovascular unit - concept review. *Acta physiologica*. 2014. Vol. 210, no. 4. P. 790–798. URL: <https://doi.org/10.1111/apha.12250>.

55. Yu X., Ji C., Shao A. Neurovascular unit dysfunction and neurodegenerative disorders. *Frontiers in neuroscience*. 2020. Vol. 14. URL: <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00334>.

56. Li C., Li L., Keates A. C. Targeting cancer gene therapy with magnetic nanoparticles. *Oncotarget*. 2012. Vol. 3, no. 4. P. 365–370. URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.490>.

57. Nanomedicine: towards development of patient-friendly drug-delivery systems for oncological applications / G. Venkatraman et al. *International journal of nanomedicine*. 2012. P. 1043. URL: <https://doi.org/10.2147/ijn.s25182>.

58. Fioretti B., Franciolini F., Catacuzzeno L. A model of intracellular Ca^{2+} oscillations based on the activity of the intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels. *Biophysical chemistry*. 2005. Vol. 113, no. 1. P. 17–23. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2004.07.037>.

59. Keizer J., Levine L. Ryanodine receptor adaptation and Ca^{2+} (-)-induced Ca^{2+} release-dependent Ca^{2+} oscillations. *Biophysical journal*. 1996. Vol. 71, no. 6. P. 3477–3487. URL: [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(96\)79543-7](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(96)79543-7).

60. Dupont G., Swillens S. Quantal release, incremental detection, and long-period Ca^{2+} oscillations in a model based on regulatory Ca^{2+} -binding sites along the permeation pathway. *Biophysical journal*. 1996. Vol. 71, no. 4. P. 1714–1722. URL: [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(96\)79373-6](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(96)79373-6).

61. Dupont G., Erneux C. Simulations of the effects of inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase and 5-phosphatase activities on Ca^{2+} oscillations. *Cell calcium*. 1997. Vol. 22, no. 5. P. 321–331. URL: [https://doi.org/10.1016/s0143-4160\(97\)90017-8](https://doi.org/10.1016/s0143-4160(97)90017-8).
62. Cuthbertson K. S. R., Chay T. R. Modelling receptor-controlled intracellular calcium oscillators. *Cell calcium*. 1991. Vol. 12, no. 2-3. P. 97–109. URL: [https://doi.org/10.1016/0143-4160\(91\)90012-4](https://doi.org/10.1016/0143-4160(91)90012-4).
63. Dupont G., Abou-Lovergne A., Combettes L. Stochastic aspects of oscillatory Ca^{2+} dynamics in hepatocytes. *Biophysical journal*. 2008. Vol. 95, no. 5. P. 2193–2202. URL: <https://doi.org/10.1529/biophysj.108.133777>.
64. Calcium oscillations / G. Dupont et al. *Cold spring harbor perspectives in biology*. 2010. Vol. 3, no. 3. P. a004226. URL: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004226>.
65. Goldbeter A., Dupont G., Berridge M. J. Minimal model for signal-induced Ca^{2+} oscillations and for their frequency encoding through protein phosphorylation. *Proceedings of the national academy of sciences*. 1990. Vol. 87, no. 4. P. 1461–1465. URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.4.1461>.
66. Developing a mathematical model of intracellular calcium dynamics for evaluating combined anticancer effects of afatinib and RP4010 in esophageal cancer / Y. Chang et al. *International journal of molecular sciences*. 2022. Vol. 23, no. 3. P. 1763. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms23031763>.
67. Travelling under pressure - hypoxia and shear stress in the metastatic journey / E. S. Ildiz et al. *Clinical & experimental metastasis*. 2023. URL: <https://doi.org/10.1007/s10585-023-10224-8>.
68. Zadeh-Haghighi H., Simon C. Magnetic field effects in biology from the perspective of the radical pair mechanism. *Journal of the royal society interface*. 2022. Vol. 19, no. 193. URL: <https://doi.org/10.1098/rsif.2022.0325>.
69. The structural basis for phospholamban inhibition of the calcium pump in sarcoplasmic reticulum / B. L. Akin et al. *Journal of biological chemistry*. 2013.

Vol. 288, no. 42. P. 30181–30191. URL: <https://doi.org/10.1074/jbc.m113.501585>.

70. Non–Voltage-Gated Ca^{2+} influx through mechanosensitive ion channels in aortic baroreceptor neurons / M. J. Sullivan et al. *Circulation research*. 1997. Vol. 80, no. 6. P. 861–867. URL: <https://doi.org/10.1161/01.res.80.6.861>.

71. Fluid shear stress activates Ca^{2+} influx into human endothelial cells via P2X4 purinoceptors / K. Yamamoto et al. *Circulation research*. 2000. Vol. 87, no. 5. P. 385–391. URL: <https://doi.org/10.1161/01.res.87.5.385>.

72. Modulation of calcium signaling and metabolic pathways in endothelial cells with magnetic fields / O. Y. Gorobets et al. *Nanoscale advances*. 2024. URL: <https://doi.org/10.1039/d3na01065a>.

73. Plank M. J., Wall D. J. N., David T. Atherosclerosis and calcium signalling in endothelial cells. *Progress in biophysics and molecular biology*. 2006. Vol. 91, no. 3. P. 287–313. URL: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2005.07.005>.

74. Shapovalov I., Harper D., Greer P. A. Calpain as a therapeutic target in cancer. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2022. Vol. 26, no. 3. P. 217–231. URL: <https://doi.org/10.1080/14728222.2022.2047178>.