

## ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА СЕДИМЕНТАЦИЮ КЛЕТОК, СОДЕРЖАЩИХ МАГНИТНЫЕ ЧАСТИЦЫ

\*Н.Н. Комова, доцент, \*\*Т.А. Никольская, старший научный сотрудник

\*кафедра Физики МИТХТ им. М. В. Ломоносова

\*\*лаборатория Количественной онкологии Института биохимической физики

им. Н. М. Эмануэля РАН

e-mail:komova@mail.ru

**И**сследовано влияние магнитного поля на макрофаги с поглощенными магнитными частицами. Показано, что наложение магнитного поля изменяет скорость оседания клеток, но в более значительной степени оказывает влияние на изменение параметра асимметричности индикатрисы светорассеяния, что свидетельствует об изменении формы оседающих клеток под воздействием магнитного поля.

*Magnetic field influence on the macrophage with the absorbed magnetic particles is investigated. It is demonstrated that the application of magnetic field changes the speed of sedimentation of cells. Changes of the nonsymmetrical indicatrix of the scattered light indicates that shape of the cells have changed under the influence of the magnetic field.*

**Ключевые слова:** светорассеяние клеток при оседании; магнитные частицы; магнитные жидкости; магнитные поля; индикатриса светорассеяния.

**Keywords:** light scattering of cells during sedimentation; magnetic particles; magnetic liquids; magnetic fields; light scattering indicatrix

### Введение

В последнее время активно проводятся исследования поведения и свойств частиц микро- и наноразмеров. Уникальные характеристики этих объектов позволяют использовать их в различных областях науки и техники, в том числе в медицинских и биологических исследованиях [1, 2]. Изучение подобных структур является в общем случае нетривиальной задачей, поскольку малые абсолютные значения физических параметров, определяющих данные системы, приводит к значительному усилению влияния разного рода флуктуаций на динамику системы. Этот факт усложняет интерпретацию получаемых результатов, особенно в такой сложной среде как живая клетка. Поэтому вполне очевидные факты требуют проверки и соответствующей корректировки.

Работы, проводимые в ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН и Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина РАМН, позволили разработать биодоступные и магнитоуправляемые медицинские препараты на основе магнитных микро- и наночастиц: магнитные жидкости, магнитные суспензии частиц и магнитные сорбенты, которые успешно применяются для иммуномагнитной сепарации клеток. На передний план выдвигается технология получения магнитоуправляемых частиц для локальной магнитной гипертермии органов, пораженных раковыми клетками, а также проведенных исследований по созданию магнитных микроносителей на основе кремнийсодержащих полистирольных декстранферритовых и железоуглеродных матриц [3, 4].

В связи с этим представляется актуальным исследование особенностей поведения как самих магниточувствительных частиц, так и кле-

ток со встроенными магнитными частицами в магнитных полях, а также изменения свойств этих систем под действием магнитных полей.

### Теоретическая часть

Живые клетки по своей структуре являются неоднородными системами, поскольку состоят из сложных включений, необходимых для нормального функционирования. Согласно моделированию тонкой структуры клеток аппроксимационными методами, факторами, управляющими светорассеянием, в порядке важности являются: а) объем частицы, ее масса, определяющая усредненный по объему показатель преломления, и форма этой частицы; б) главное радиальное распределение массы, т.е. крупная структура; в) детали внутри этого распределения (выросты, дырки, мелкие неоднородности) [5, 6]. Следовательно, в большинстве случаев при моделировании дисперсионной среды достаточно учитывать только крупную структуру рассеивателей, и при изучении и интерпретации характеристик светорассеяния использовать простые модели, для которых известно точное решение, что позволяет вести контроль адекватности применения выбранного приближения.

В качестве основных моделей рассеивателя при решении оптических задач рассматриваются однородный и двухслойный шар, а также эллипсоид вращения. Изменяя соотношение осей эллипсоида, можно получить палочкообразные, дискообразные и шарообразные частицы, аппроксимировать другие формы [7–11]. Наличие неоднородности внутри исследуемых клеток в первом приближении можно учесть, используя в качестве моделей двухслойные шары [9–11].

Аналитические и численные методы для вычисления рассеянного дисперсиями электромагнитного поля базируются на решении уравнений Максвелла. Все методы можно разделить на две категории: методы, основанные на дифференциальном представлении, которые позволяют вычислять рассеянное поле с помощью решения векторного волнового уравнения в частной или временной области; и методы, основанные на представлении уравнений Максвелла объемными или поверхностными интегралами. При этом предполагается, что концентрация частиц в дисперсионной среде низкая, и, следовательно, эффектами многократного рассеяния можно пренебречь, и при этом применима теория однократного рассеяния. Рассмотрение ограничивается случаем упругого рассеяния: частота рассеянного света такая же, как у падающего света. Это исключает из рассмотрения такие явления неупругого рассеяния, как рассеяние Рамана и Мандельштама-Бриллюэна [12].

Наиболее сложным является вопрос о светорассеянии при выполнении практических измерений в рамках эксперимента, поскольку при этом требуется выявление обобщенных параметров, влияющих на характеристики светорассеяния, информация о которых в точном решении чаще всего представлена в «скрытой» форме. Использование строгой теории светорассеяния позволяет получать информацию о произвольном рассеивающем объекте, но такие расчеты трудоемки, а получаемая информация сложна для анализа. Более простую для анализа информацию можно получить с помощью приближенных решений – аппроксимаций.

Для получения аппроксимационных решений используют интегральное представление амплитуды рассеяния линейно-поляризованной плоской электромагнитной волны, имеющей частоту  $\omega$  и распространяющейся в среде с диэлектрической  $\epsilon$  и магнитной  $\mu$  проницаемостями. Электрическое поле такой волны имеет вид:

$$\mathbf{E}_i(\mathbf{r}) = \mathbf{E}_{i0} \exp(i\mathbf{k}\mathbf{r}), \text{ где } \mathbf{E}_{i0} = \mathbf{E}_0 \exp(-i\omega t).$$

Используя свойства вектора Герца [13], можно получить выражение для рассеянного поля в дальней зоне частицы ( $kR \gg 1$ ):

$$\mathbf{E}^S(\mathbf{r}) = \mathbf{f}(\mathbf{o}, \mathbf{i}) e^{ikR} / R \quad (1)$$

где

$\mathbf{f}(\mathbf{o}, \mathbf{i}) = \int \{-\mathbf{o} \times [\mathbf{o} \times \mathbf{E}(\mathbf{r}')]\} (m^2(\mathbf{r}') - 1) \exp(-i\mathbf{k}\mathbf{r}' \cdot \mathbf{o}) dV' - V$  амплитуда рассеяния описывает амплитуду, фазу и поляризацию рассеянной волны в дальней зоне в направлении  $\mathbf{o}$  (единичный вектор в направлении рассеянного луча) при условии, что на частицу падает плоская волна, распространяющаяся в направлении  $\mathbf{I}$  (единичный вектор в направлении падающего луча);  $k$  – волновое число дисперсионной среды;  $R$  – расстояние от точки наблюдения до частицы,  $m$  – относительный показатель преломления.  $\mathbf{E}(\mathbf{r}')$

– независимая от времени составляющая электрического поля внутри частицы.

Соотношение (1) является точным интегральным выражением амплитуды рассеяния  $\mathbf{f}(\mathbf{o}, \mathbf{i})$  через полное электрическое поле  $\mathbf{E}(\mathbf{r}')$  внутри частицы. В общем случае  $\mathbf{E}(\mathbf{r}')$  неизвестно и не дает замкнутого описания  $\mathbf{f}(\mathbf{o}, \mathbf{i})$ . Однако часто, исходя из физических соображений,  $\mathbf{E}(\mathbf{r}')$  можно приближенно заменить известной функцией и, таким образом, получить приближенное решение для  $\mathbf{f}(\mathbf{o}, \mathbf{i})$ .

Главные идеи всех приближенных методов связаны с определенными областями значений фундаментальных характеристик вещества: дифракционного параметра  $\rho$  и относительного показателя преломления  $m$ . Дифракционный параметр представляет соотношение:  $\rho = (\pi d / \lambda) m_0$ , где  $d$  – характерный размер рассеивателя,  $\lambda$  – длина волны падающего излучения в вакууме,  $m_0$  – показатель преломления окружающей дисперсионной среды.

Учет условия  $kd \ll 1$  при подстановке  $\mathbf{E}(\mathbf{r}') = \text{const}$  в выражение (1) приводит к результатам, совпадающим с релеевским рассеянием [14]. При этом частица рассматривается как элементарный диполь, поляризуемость которого оценивается из уравнения электростатики:

$$|f(o, i)| = \frac{k^2}{2\pi} |m-1| V \sin \chi, \quad (2)$$

где  $\chi$  – угол между направлением падающей волны и направлением ее поляризации.

Для оптически мягких частиц, удовлетворяющих условию:

$$|m-1| \ll 1, \quad |m-1| kd \ll 1 \quad (3)$$

применимо приближение Релея-Ганса-Дебая (РГД). В рамках этого приближения рассматриваются интегральные характеристики светорассеяния больших оптически мягких сферических частиц: формирование доли потока, рассеянного в заднюю полусферу, параметр асимметрии индикатрисы рассеяния  $\eta$ , интегральная индикатриса  $F(\theta_0)$ , индикатриса  $I(\theta)$  и коэффициент асимметрии индикатрисы рассеяния  $\eta$  оптически мягкого однородного шара и представляются выражениями:

$$F(\theta_0) = \frac{2\pi}{K_{\text{рас}}} \int_0^{\theta_0} I(\theta) (\sin \theta) d\theta, \quad (4)$$

$$I(\theta) = \frac{|f(\theta)|^2}{\pi r^2}, \quad \eta = \frac{F(\pi/2)}{1 - F(\pi/2)},$$

где  $f(\theta)$  – амплитуда светорассеяния,  $r$  – радиус шара,  $K_{\text{рас}}$  – фактор эффективности рассеяния.

Фактор внутренней интерференции для однородных шаров можно представить в виде [15]:

$$G(u) = \frac{3}{u^3} (\sin(u) - u \cos(u)) = \sqrt{\frac{9\pi}{2u^3}} J_{3/2}(u), \quad (5)$$

где  $u = 2\rho \sin(\theta/2)$ ,  $\theta$  – угол рассеяния,  $J_{3/2}(u)$  – функция Бесселя порядка  $3/2$ .

Индикатриса рассеянного света в терминах

такого представления выражается как:

$$I(\theta) = \frac{k^4 V^2}{8\pi^3 a^2} |m-1|^2 I_0 G^2(u)(1 + \cos^2 \theta), \quad (6)$$

где  $I_0$  – интенсивность падающего излучения.

Объем шара:  $V=(4/3)\pi r^3$ , дифракционный параметр для шара:  $\rho = ka$ , подставляя эти значения в (6), можно получить:

$$I(\theta) = \frac{2\rho^4}{9\pi} |m-1|^2 I_0 G^2(u)(1 + \cos^2 \theta) \quad (7)$$

Интенсивность рассеяния в конус с углом  $2\theta_0$ :

$$I_{\theta_0} = \frac{4}{9} \rho^4 |m-1|^2 I_0 \int_0^{\theta_0} G^2(2\rho \sin(\theta/2))(1 + \cos^2 \theta)(\sin \theta) d\theta. \quad (8)$$

Используя выражения для  $u$  и производя небольшие преобразования, получаем:

$$I_{\theta} = \frac{|m-1|^2}{9} I_0 \left\{ 8\rho^2 \int_0^{2\rho b} G^2(u) u du - 4 \int_0^{2\rho b} G^2(u) u^3 du + \frac{1}{\rho^2} \int_0^{2\rho b} G^2(u) u^5 du \right\}, \quad (9)$$

где  $b = \sin(\theta_0/2)$ .

Интегралы в выражении (9) сводятся к

$$I_{\theta_0} = I_0 |m-1|^2 \left\{ A + 2\rho^2 + (4b^2 - 2A) \frac{\sin(4\rho b)}{4\rho b} + \left[ \frac{\cos(4\rho b) - 1}{(4\rho b)^2} \right] (12b^2 - 2A) + \left( \frac{1}{2\rho^2} - 2 \right) S_1(4\rho b) \right\}, \quad (10)$$

где  $A = 2 + b^2 - 1/(2b^2)$ ,  $S_1(x) = \int_0^x \frac{1 - \cos u}{u} du = \ln(x) + \gamma - Ci(x)$ ,  $Ci(x)$  – интегральный косинус,  $\gamma$  –

постоянная Эйлера-Маскерони.

Интегральная индикатриса  $F(2\rho b)$  для модели шаров в приближении РГД представляет собой отношение (10) к фактору эффективности светорассеяния  $K_{\text{рас.}}$  и  $I_0$ .

При  $\rho \rightarrow \infty$ ,  $u_0 = 2\rho \sin(\theta_0/2) = \text{const}$ ,  $b \rightarrow 0$ ,  $A \rightarrow -1/(2b^2)$ ,  $K_{\text{рас.}} \rightarrow 2\rho^2 |m-1|^2$ ,

$$F(\rho\theta_0) = 1 - \frac{1}{(\rho\theta_0)^2} + \frac{\sin(2\rho\theta_0)}{(\rho\theta_0)^3} + \left[ \frac{\cos(2\rho\theta_0) - 1}{2(\rho\theta_0)^4} \right]. \quad (11)$$

Выражение (11) справедливо с погрешностью менее 10% для  $\rho \geq 5$ , с ростом  $\rho$  погрешность уменьшается.

Для угла рассеяния  $\theta_0 = \pi/2$  расчет дает  $b = 1/\sqrt{2}$ ;  $A = 3/2$  и  $F(\pi/2) \approx 1$ .

Для угла рассеяния  $\theta_0 = \pi$   $b = 1$  и соответственно  $A = 5/2$  и  $F(\pi) = \frac{1 - \ln 2 + 2\rho^2}{2\rho^2}$

$$F(\pi) - F(\pi/2) = (1 - \ln 2)/(2\rho^2) \quad (12)$$

Это соотношение полностью соответствует эффекту Ми, согласно которому для частиц большого размера рассеяние вперед (в область острых углов) преобладает над рассеянием назад. Следовательно, параметр асимметрии индикатрисы рассеяния  $\eta$ :

$$\eta = \frac{2\rho^2}{1 - \ln 2} \quad (13)$$

Для хаотично ориентированных сфероидов в [13,16] получены следующие выражения:

$$I(\rho, \theta) = \frac{(1 + \cos^2 \theta) k^4 V^2}{8\pi^2 r^2} |m-1|^2 I_0 G_{\text{сф}}^2(\theta), \quad (14)$$

где  $G_{\text{сф}}^2 = \frac{9\pi}{2} \int_0^1 \frac{J_{3/2}^2(u)}{u^6} dz$ .

Представленные соотношения могут быть использованы для интерпретации рассеяния полидисперсной системой сферических частиц [17]:

табличным интегралам от  $\sin(u)/u^n$  и  $\cos(u)/u^n$ .

После интегрирования (9) получаем:

$$I(\rho, \theta) = \frac{(1 + \cos^2 \theta)}{2k^2 r^2} \frac{4}{9} |m-1|^2 I_0 \int_0^1 \frac{\rho^6 \varepsilon^4}{\rho_w^6} (\rho_w^6 G^2(u)) dz, \quad (15)$$

где  $\rho_w = \rho \sqrt{\varepsilon^2 - (\varepsilon^2 - 1)z^2}$ ;  $u = 2\rho_w \sin \frac{\theta}{2}$ .

При замене переменных можно получить:

$$I(\rho, \theta) = \int_{\rho}^{\rho\varepsilon} I(\rho_w, \theta) f(\rho_w) d\rho_w \quad (16)$$

где  $I(\rho_w, \theta)$  – интенсивность светорассеяния сферической частицей с дифракционным параметром  $\rho_w$ ,  $f(\rho_w)$  – функция распределения сферических частиц по размерам:

$$f(\rho_w) = \frac{\varepsilon^4 \rho^5}{(\varepsilon^2 - 1) \rho_w^5} \sqrt{\frac{\varepsilon^2 - 1}{\rho^2 \varepsilon^2 - \rho_w^2}} \quad (17)$$

Распределение (17) является достаточно универсальным, поскольку аналогичное распределение получено для сфероидов при описании интегральных характеристик светорассеяния взвесей [18] и обладает важным свойством – с его помощью можно представить выражения для площади поверхности ( $S$ ) и объема ( $V$ ) для сфероида:

$$S = \int_{\rho}^{\rho\varepsilon} 4\pi \rho_w f(\rho_w) d\rho_w, \quad V = \int_{\rho}^{\rho\varepsilon} \frac{4\pi \rho_w^3}{3} f(\rho_w) d\rho_w, \quad (18)$$

где  $r_{\text{ш}}$  – радиус шаровой частицы в распределении,  $\rho_{\text{ш}} = 2\pi r_{\text{ш}}/\lambda$ ;  $\rho$  и  $\rho\varepsilon$  – минимальный и максимальный размеры дифракционного параметра сфероида (представление максимального и минимального значения зависит от величины параметра  $\varepsilon$ ). Аналогичная функция получена для системы, состоящей из хаотично ориентированных эллипсоидов [19]. Из аналогий представленных зависимостей следует, что, если для произвольной хаотически ориентированной несферической частицы су-

существует эквивалентное ей распределение сферических частиц  $f(\rho_{ш})$ , такое, что

$$I(\rho, \theta) = \int_{\rho_{\min}}^{\rho_{\max}} I(\rho_{ш}, \theta) f(\rho_{ш}) d\rho_{ш}, \quad (19)$$

то его вид должен удовлетворять интегральным уравнениям:

$$S = \int_{\rho_{\min}}^{\rho_{\max}} 4\pi \rho_{ш}^2 f(\rho_{ш}) d\rho_{ш}, \quad V = \int_{\rho_{\min}}^{\rho_{\max}} \frac{4\pi \rho_{ш}^3}{3} f(\rho_{ш}) d\rho_{ш}, \quad (20)$$

где  $\rho_{\max}$ ,  $\rho_{\min}$  – максимальное и минимальное значение дифракционного параметра несферической частицы, а  $S$  и  $V$  – соответственно пло-

$$F_{\text{назад}} = F(\pi) - F(\pi/2) \approx \int_{\rho_{\min}}^{\rho_{\max}} \pi^2 I_0 |m-1|^2 (1-\ln 2) f(\rho_{ш}) d\rho_{ш} = I_0 |m-1|^2 (1-\ln 2) \frac{S}{4}, \quad (22)$$

где  $S$  – площадь поверхности частицы.

Проведенные расчеты и экспериментальные данные [9, 12], где в качестве параметров использовались  $\rho_{\text{экв}}$ . (величина дифракционного параметра шаровой частицы, имеющей такой же объем, что и несферическая частица) и безразмерная величина площади поверхности фигуры, которая рассчитывалась нормировкой на  $\Gamma_{\text{экв}}^2$ . – квадрат радиуса эквиобъемной сферической частицы, показали хорошее подтверждение выражения (22). Используя полученные выражения, с помощью метода малугловой индикатрисы рассеяния можно рассчитать дифракционный параметр эквиобъемного несферической частицы шара, а следовательно, и сам объем.

По рассчитанному объему и площади поверхности частицы можно однозначно определить ее форму.

Для большого шара практически вся рассеянная энергия сосредоточена в передней полусфере и ее интегральная индикатриса:

$$\frac{I_{\pi/2}}{\pi^2} = 2\rho^2 |m-1|^2 I_0 \quad (23)$$

Простым преобразованием можно показать, что суспензия хаотично ориентированных сфероидов рассеивает в переднюю полусферу поток:

$$F(\pi/2) = |m-1|^2 I_0 \int_{\rho_{\min}}^{\rho_{\max}} f(\rho_{ш}) 2\rho_{ш}^4 d\rho_{ш}. \quad (24)$$

Отношение потоков, рассеянных в переднюю и заднюю полусферу (параметр асимметрии  $\eta$ ), можно представить в виде соотношения:

$$\eta = \frac{F(\pi/2)}{F(\pi) - F(\pi/2)} = \frac{4\rho^2}{1-\ln 2} \left[ \frac{1}{\varepsilon^2} + \frac{2}{A} \right]^{-1}, \quad (25)$$

где

$$A = \begin{cases} \frac{1}{\varepsilon^2} \ln \left[ \frac{1+\varepsilon_1}{1-\varepsilon_1} \right], \varepsilon_1 = \varepsilon \left( 1 - \frac{1}{\ln(2\varepsilon)} \right), \varepsilon > 1 \\ \frac{2\varepsilon}{\varepsilon_2} \arcsin \varepsilon_2, \varepsilon_2 = \varepsilon (1 - \ln 2\varepsilon), \varepsilon < 1 \end{cases} \quad (26)$$

щадь ее поверхности и объем.

Для случая больших частиц ( $\rho \gg 1$ ) количество света, рассеянного сферической частицей в заднюю полусферу углов рассеяния  $F_{\text{назад}}$ , согласно выражениям (8) и (10), равно:

$$F_{\text{назад}} = F(\pi) - F(\pi/2) \approx \pi r^2 I_0 |m-1|^2 (1-\ln 2), \quad (21)$$

где  $\pi r^2$  – площадь поперечного сечения шара.

Для монодисперсной взвеси хаотично ориентированных несферических частиц произвольной формы со значениями  $\rho_{\min}$ ,  $\rho_{\max} \gg 1$  величина потока, рассеянного в заднюю полусферу, согласно выражениям (20, 21):

Приведенный теоретический анализ особенностей светорассеяния живых клеток дает возможность судить о форме клеток и ее изменении на основании определения относительного светорассеяния, параметра асимметрии индикатрисы светорассеяния в процессе седиментации клеток в биосовместимой жидкой среде.

#### Экспериментальная часть

В настоящей работе в качестве объекта исследования выбраны внутрибрюшинные макрофаги мышей, которые получали общепринятым способом – промыванием брюшной полости животных физиологическими растворами или раствором Хенкса, содержащими гепарин, после введения за 24-48 ч до этого в брюшную полость 2 мл 2% раствора триптона в растворе Хенкса.

Жизнеспособность и целостность клеток оценивали по исключению клетками трипановой сини. Количество жизнеспособных клеток составляло не менее 95%. Макрофаги инкубировали *in vitro* с железоуглеродными частицами в течение не менее 2 ч в среде RPMI-1640 (продукт «ПанЭко»), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки.

Концентрация клеток в растворе для исследований методом светорассеяния в разных экспериментах составляла не более  $9 \cdot 10^5$  клеток/мл, что определялось порогом независимости интенсивности светорассеяния от концентрации клеток [20].

В экспериментах *in vitro* макрофаги фагоцитировали магнитные железоуглеродные частицы из суспензии МУН (тип 290/ф), разработанной в ИБХФ РАН. Магнитоуправляемые частицы имеют следующие характеристики: содержание железа – 44%; углерода – 55%; прочие примеси – менее 1%; намагниченность в поле 500 эрстед – 60 эме/г; магнитная гетерогенность – менее 3% частиц углерода, неуправляемых магнитным полем; средний размер частиц гидрозоля, стабилизированного альбумином –  $0.6 \pm 1$  мкм.

На рис. 1б и 1в представлены распластанные на стекле макрофаги с поглощенными и адгезированными конгломератами наночастиц. Из рис. 1 можно получить представление о типе взаимодействия клетки с магнитными частицами. Как видно на рис. 1б, происходит встраивание целых конгломератов частиц в клетку, аналогичная ситуация имеет место при адгезии частиц к поверхности клеток.

Для исследования влияния магнитных полей на систему «клетка – магнитные частицы» выбран метод светорассеяния частиц в жид-

кости в процессе оседания, широко используемый в исследовательской практике биологических систем [21–22]. Методика проводимого исследования и описание прибора, используемого в данной работе, приведены в [20]. Клетки находились в изотоническом солевом растворе Хенкса, через который пропускался свет с длиной волны 546 нм. Рассеяние светового пучка оценивали сравнением интенсивности исходного и прошедшего через раствор с клетками под разными углами ( $20^\circ$ ,  $90^\circ$  и  $160^\circ$ ) света с помощью ФЭУ (фотоэлектронного умножителя).

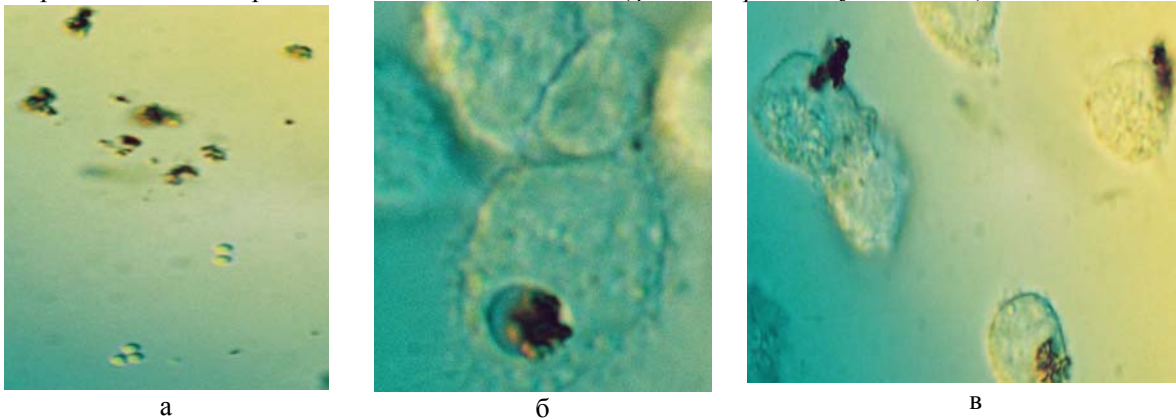


Рис. 1. Фотографии магнитных частиц (для сравнения показаны латексные частицы размера 1.5 мкм, (а): макрофаги с поглощенными магнитными частицами (б); макрофаги с магнитными частицами, адсорбированными на поверхности (в) (об.  $\times 100$ ).

В исследуемой системе – макрофаги с поглощенными частицами – рассеивающие центры будут иметь разный характер: оптически мягкие (клетки макрофагов) и оптически жесткие – частицы металла, которые адсорбировались на поверхности макрофагов, проникли внутрь клетки, либо остались в растворе. Поэтому необходимо оценить вклад каждого из этих центров в общий процесс рассеяния, а также их взаимное влияние.

В связи с использованием термина «в магнитном поле» следует отметить, что осевшие частицы уже находились в магнитном поле Земли (как известно оно составляет приблизительно 0.5 мТл). В проводимых экспериментах использовалось магнитное поле, превышающее Земное на три порядка. Поэтому в рассуждениях о влиянии наводимого в экспериментах поля на частицы и живые клетки величиной магнитного поля Земли пренебрегали. Ориентирующее магнитное поле создавалось в ячейке с водной суспензией частиц с помощью постоянных магнитов, размещенных на оси ячейки и перпендикулярно световому пучку, проходящему через исследуемый раствор. Силовые линии магнитного поля проходили перпендикулярно направлению светового пучка. Величина прикладываемого магнитного поля составляла 270–300 мТл.

#### Светорассеяние твердыми железо-углеродными частицами

Для исследования вклада светорассеяния

магнитными частицами использовали железоуглеродные частицы из суспензии МУН (тип 290/ф). Суспензию магнитных частиц в воде (концентрация магнитных частиц 0.3 мг/мл), обработанную звуковым диспергатором широкого диапазона воздействия (от 30 Гц до 160 кГц, с периодом импульсной модуляции 0.5–1.2 с и микровибрацией от 2.1 до 12.3 мкм) в течение 60 мин, помещали в оптическую ячейку, расположенную между полюсами магнита.

Исследование светорассеяния под разными углами дает возможность оценить индикатрису рассеяния и сделать вывод об изменении формы рассеивающих частиц в процессе седиментации и воздействия магнитного поля. В качестве параметра асимметрии индикатрисы рассеяния использовали отношение интенсивности рассеяния при  $20^\circ$  к интенсивности рассеяния при  $160^\circ$  (коэффициент асимметрии  $\eta = I_{20}/I_{160}$ ).

Исходная суспензия железоуглеродных частиц (до приложения магнитного поля) характеризуется коэффициентом асимметрии индикатрисы, полученной в процессе светорассеяния:  $\eta = 1.7$ . При наложении поля (магнитная индукция  $B = 270$  мТл) на оседающие в водном растворе частицы в процессе светорассеяния в течение короткого промежутка времени (10 мин) происходит незначительное изменение этого коэффициента до 2.03. После выдержки в течение продолжительного времени (более 60 мин) в магнитном поле с аналогичной силовой характеристикой (270–300

мТл) наблюдается восстановление исходного значения до 1.7. Этот эффект можно объяснить изменением ориентации частиц в магнитном поле.

В пользу данного предположения говорит и изменение фактора рассеяния света частицами после выдержки в магнитном поле. Фактор рассеяния определяется как отношение интенсивности рассеяния под углом  $\theta$  к интенсивности рассеяния, экстраполированной к углу  $\theta = 0^\circ$ . Фактор рассеяния связан с радиусом инерции частицы и зависит от ее формы (сферы, тонкие диски, тонкие палочки, цилиндры, статистические клубки, полидисперсные статистические клубки и жесткие клубки).

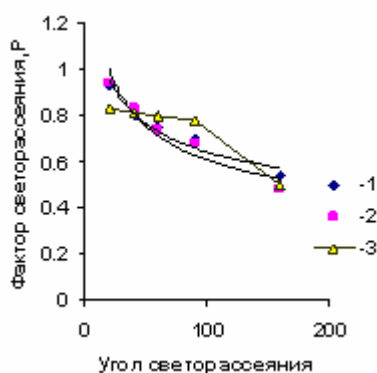


Рис. 2. Зависимость фактора рассеяния света ( $\lambda = 546$  нм) суспензией железноуглеродных частиц ( $c = 0.3$  мг/мл) от угла наблюдения. 1 – до приложения магнитного поля; 2 – в магнитном поле ( $B = 270$  мТл) в течение 10 мин; 3 – после выдержки в магнитном поле ( $B = 270$  мТл) в течение 60 мин.

На рис. 2 показаны зависимости фактора рассеяния для суспензии железноуглеродных частиц в воде от угла рассеяния. Видно, что кривые изменения интенсивности светорассеяния исходных частиц (кривая 1) и аналогичная кривая для частиц, выдержанных 10 мин в магнитном поле (кривая 2), практически повторяют друг друга и имеют экспоненциальный характер. После выдержки 60 мин в том же поле аналогичная зависимость изменяется, и фактор

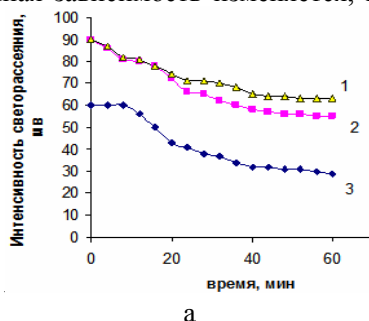


Рис. 3. Кинетика светорассеяния: макрофагов в растворе Хенкса (1), макрофагов со встроенными магнитными частицами (2) и макрофагов с магнитными частицами в приложенном магнитном поле (270 мТл) в направлении оседания клеток (3) (а) и логарифмическая анаморфоза соответствующих кинетических кривых (б).

Таким образом, из экспериментальных данных следует, что наличие в клетках (или на их поверхности) железноуглеродных частиц при-

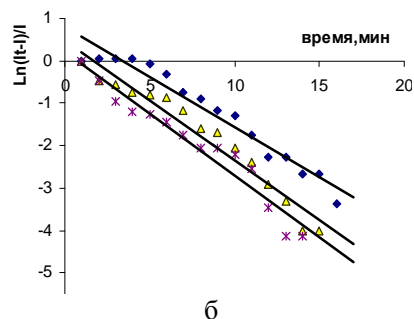
рассеяния практически не зависит от угла рассеяния в передней полуплоскости. Такие изменения возможны как под влиянием внешнего магнитного поля, так и в результате дополнительного намагничивания частиц и взаимодействия локальных магнитных полей.

На основании полученных результатов по светорассеянию взвесей железноуглеродных частиц можно сделать вывод, что приложение постоянного магнитного поля не оказывает заметного влияния на параметры светорассеяния. Этот вывод позволяет корректно интерпретировать результаты по светорассеянию живых клеток (макрофагов) со встроенными частицами в магнитном поле и без него.

#### Светорассеяние при седиментации макрофагов

В процессе исследования светорассеяния клеток (макрофагов), оседающих в изотоническом солевом растворе Хенкса, установлено, что с течением времени интенсивность светорассеяния системы падает. На рис. 3 представлены кинетические кривые изменения светорассеяния макрофагов без магнитных частиц (1), макрофагов с магнитными частицами, захваченными клетками за время инкубации *in vitro* в течение 75 мин (2), и для тех же клеток с магнитными частицами в присутствии магнитного поля величиной 270 мТл, наведенного снизу кюветы. Кинетические кривые удовлетворительно аппроксимируются логарифмической зависимостью, из которой можно рассчитать коэффициент скорости изменения интенсивности светорассеяния.

Для макрофагов, оседающих в поле силы тяжести  $k = 6.7 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$  (кривая 1), макрофагов, насыщенных железноуглеродистыми частицами  $k = 2.08 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$  (кривая 2), и для макрофагов, насыщенных железноуглеродными частицами и оседающих в подведенном снизу кюветы магнитном поле ( $B = 270$  мТл) эта величина составляет  $1.4 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$  (кривая 3).



водит к падению скорости изменения интенсивности светорассеяния в 3 раза, тогда как приложенное снизу магнитное поле изменяет

эту скорость только в 1.5 раза.

Причинами изменения интенсивности светорассеяния могут являться два фактора. Первый из них – уменьшение числа рассеивающих центров (N) за счет оседания клеток и изменения их концентрации по уравнению Бугера:

$$\ln(I_0/I) = RN, \quad (27)$$

где R – оптическое сечение частицы, определяющее количество энергии, рассеянной за единицу времени одной частицей;  $R = S \cdot K_{\text{рас}}$ , где S – площадь геометрического сечения сферической частицы,  $K_{\text{рас}}$  – коэффициент рассеяния или фактор эффективности рассеяния. Роль рассеивающих частиц в данном случае играют клетки – макрофаги.

Вторым фактором является изменение формы или размера клетки в результате наличия поглощенных ими твердофазных частиц, что приводит к изменению площади геометрического сечения рассеивающих центров, их дифракционного параметра  $\rho$  и, как следствие, к перераспределению потоков, рассеянных в переднюю и заднюю полусферы, что характеризует параметр асимметрии индикатрисы светорассеяния  $\eta$  (см. выражение 25).

Макрофаги, находившиеся в пучке света, оседали под действием силы тяжести, и в процессе оседания, по-видимому, их форма из статистически сфероидной конфигурации скорее всего должна переходить в эллипсоидную. Потому большая ось эллипсоида (b) будет направлена вдоль движения частицы, а меньшая (a) – вдоль светового потока. В результате реализуется конфигурация, когда  $\varepsilon < 1$  ( $\varepsilon = a/b$ ) (см. формулу 26).

Рассматривая случай вытягивания рассеивающей клетки вдоль движения – в процессе чего происходит уменьшение  $\varepsilon$  – и считая при этом незначительным изменение параметра  $\rho$ , получаем зависимость:

$$\eta = \rho^2 \frac{4}{(1 - \ln 2)} \frac{\varepsilon^2 A}{(2\varepsilon^2 + A)}, \quad (28)$$

где  $A = 2\varepsilon / u$ ,  $u = (\arcsin \varepsilon_2) / \varepsilon_2$ ,  $\varepsilon_2 = \varepsilon (1 - \ln 2 \varepsilon)$ .

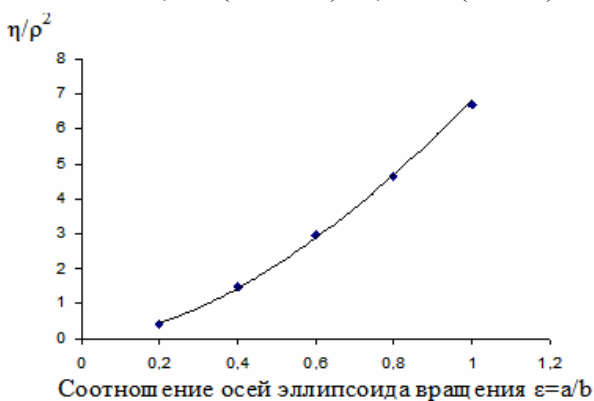


Рис. 4. Зависимость коэффициента асимметрии индикатрисы светорассеяния  $\eta$ , отнесенной к квадрату дифракционного параметра  $\rho$ , от соотношения осей эллипсоида вращения  $\varepsilon$ .

Если переобозначить величины, остающиеся неизменными в процессе опыта через z, выражение (28) примет вид:  $\eta = z \rho^2$ . Зависимость параметра z от  $\varepsilon$  согласно уравнению (28), представлена на рис. 4. Видно, что с увеличением  $\varepsilon$  монотонно увеличивается и соотношение  $z = \eta / \rho^2$ , но с большей скоростью. Из чего следует: чем больше изменение формы рассеивающего центра, тем интенсивней изменяется параметр асимметрии индикатрисы светорассеяния.

Кинетические кривые изменения показателя асимметрии индикатрисы светорассеяния представлены на рис. 5. Кривая 1 представляет изменение параметра  $\eta$  для макрофагов со встроенными частицами без магнитного поля, а кривая 2 – в магнитном поле.

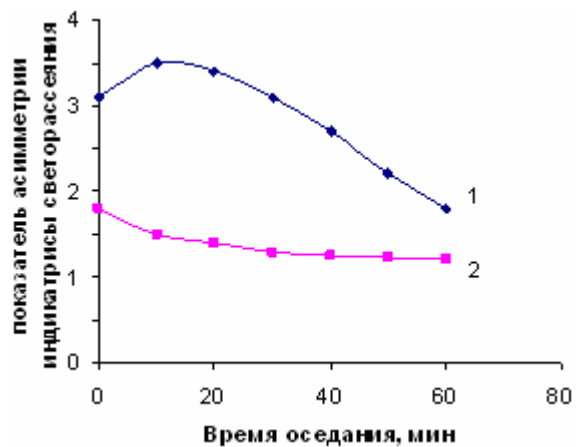


Рис. 5. Изменение параметра асимметрии индикатрисы светорассеяния в процессе седиментации: 1 – клеток со встроенными ферритовыми частицами в отсутствие магнитного поля; 2 – тех же клеток в присутствии магнитного поля  $B = 250$  мТл.

Параметр асимметрии индикатрисы рассеяния макрофагов, содержащих ферритовые частицы, при оседании в растворе с приложенным магнитным полем уменьшается с 3.016 до 2.35 единиц за время 60 мин, что характеризует изменение формы частицы в процессе оседания – переход из сфероидной в более вытянутую форму (эллипсоид). В течение первых 10 мин происходит некоторое увеличение показателя асимметрии в 1.2 раза, что можно связать с изменением ориентации клеток в растворе в начале осаждения (это согласуется и с пологим характером кривой 1 на рис. 5).

При оседании тех же клеток без магнитного поля значение параметра асимметрии индикатрисы рассеяния имеют меньшие значения и их величины меняются не так интенсивно. Из этого следует, что асимметричность рассеивающих центров при приложении магнитного поля больше, чем в его отсутствие. Это происходит на фоне постепенного уменьшения светорассеяния (рис.3, кривая 3) за счет уменьшения концентрации рассеивающих частиц в растворе.

Таким образом, из экспериментальных данных следует, что магнитное поле, приложенное к взвесям макрофагов, содержащих твердые железоуглеродные частицы, не только влияет на скорость оседания этих частиц, но и меняет их

форму и ориентацию в пространстве.

*Авторы выражают благодарность д. ф-м. н., профессору А.А. Кузнецову (ИБХФ РАН) за предоставленный магнитоуправляемый носитель.*

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Crommie, M. Manipulating magnetism in a single molecule / M. Crommie // Science Magazine. – 2005. – Vol. 309, № 5740. – P. 1501–1502.
2. Wang, S. Magneto-nano biosensors for medicine / S. Wang // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2006. – Vol. 2, № 4. – P. 279–280.
3. Магнитоуправляемые биологические препараты для диагностики и терапии онкологических заболеваний / Н. А. Брусенцов [и др.] // X Международная Плесская конференция по магнитным жидкостям. Сборник научных трудов. – Иваново – Плещ, 2002. – С. 305–307.
4. Применение биомагнитных носителей в медицине / Н. А. Брусенцов [и др.] // Сборник докладов. – Москва, ИБХФ им. Н. М. Эмануэля РАН, 2002. – С. 60–67, 2002 (в России).
5. Latimer, P. Light scattering by a structured particle: the homogeneous sphere with holes / P. Latimer // Appl. Opt. – 1984. – Vol. 23, № 11. – P. 1844–1847.
6. Latimer, P. Light scattering, data inversion and information theory / P. Latimer // J. Coll. Interf. Sci. – 1972. – Vol. 39. – P. 497–503.
7. Фарафонов, В. Г. Рассеяние света многослойными эллипсоидами в релеевском приближении / В. Г. Фарафонов // Оптика и спектроскопия. – 2000. – Т. 88, № 3. – С. 492–494.
8. Asano, S. Light scattering by spheroidal particle / S. Asano, G. Yamamoto // Appl. Opt. – 1975. – Vol. 14. – P. 29–49.
9. Kereker, M. The scattering of light and electromagnetic radiation / M. Kereker. – N.Y. : Academic, 1969. – 670 p.
10. Зеге, Е. П. Аппроксимация аномальной дифракции для двухслойных частиц / Е. П. Зеге, А. А. Кохановский // Изв. АН СССР. Физ. атмосф. и океана. – 1989. – Т. 25, № 11. – С. 1195–1201.
11. Morris, V. J. Anomalous diffraction approximation to the low-angle scattering from coated spheres: A model for biological cells / V. J. Morris, B. R. Jennings // Biophys. – 1977. – Vol. 178, № 1. – P. 310–316.
12. Исимару, А. Распространение света в случайно-неоднородных средах / А. Исимару. – М. : Мир, 1981. Ч. 1. – 280 с.
13. Хлебцов, Н. Г. Интегральное уравнение для задач рассеяния света на частицах среды / Н. Г. Хлебцов // Оптика и спектроскопия. – 1984. – Т. 57, № 4. – С. 658–661.
14. Kuik, F. Benchmark results for single scattering by spheroids / F. Kuik, J. F. de Haan, J. W. Hovenier // JQSRT – 1992. – Vol. 47. – P. 477–489.
15. Борен, К. Поглощение и рассеяние света малыми частицами: Пер. с англ. / К. Борен, Д. Хафмен. – М. : Мир, 1986. – 660 с.
16. Latimer, P. Light scattering by ellipsoids / P. Latimer // J. Coll. Interface Sci. – 1975. – Vol. 53. – P. 102–109.
17. Сидько, Ф. Я. Поляризационные характеристики взвесей биологических частиц / Ф. Я. Сидько, В. Н. Лопатин, Л. Е. Парамонов. – Новосибирск : Наука, 1990. – 119 с.
18. Лопатин, В. Н. Введение в оптику взвесей клеток / В. Н. Лопатин, Ф. Я. Сидько. – Новосибирск : Наука, 1988. – 240 с.
19. Парамонов, Л. Е. Об оптической эквивалентности хаотично ориентированных эллипсоидальных и полидисперсных сферических частицах. Поперечники ослабления, рассеяния и поглощения / Л. Е. Парамонов // Оптика и спектроскопия. – 1994. – Т. 77. – С. 660–663.
20. Комова, Н. Н. Применение метода светорассеяния для оценки первичных повреждений в клетках в процессе сенсibilизированного фотолиза / Н. Н. Комова, Т. А. Никольская // Деп. в ВИНТИ 04.08.05. №1124-B2025.
21. Лопатин, В. Н. Метод определения оптических констант, размеров и концентраций мягких поглощающих частиц в области полосы просветления / В. Н. Лопатин, А. Д. Апонасенко, Н. В. Шепелевич // Журн. прикл. спектроскопии. – 1997. – Т. 64, № 6. – С. 807–812.
22. Farafonov, V. G. Light scattering by a core-mantle spheroid particle / V. G. Farafonov, N. V. Voshchinnikov, V. V. Somsikov // Appl. Opt. – 1996. – Vol. 35. – P. 5412–5426.