

РОЛЬ НАНОЧАСТИЦ В ИЗУЧЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В РАДИО И МИКРОВОЛНОВОМ ДИАПАЗОНЕ

Казаринов К.Д.¹, Полников И.Г.¹, Чеканов А.В.², Титов С.В.¹

¹ ФГБУН Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН
ул. Введенского, 4, г. Фрязино, 141190, РФ; e-mail: kazarinovkonstantin@yandex.ru

² ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
ул. Островитянова, 1, г. Москва, 117997, РФ

Поступила в редакцию: 01.07.2020

Аннотация. В предлагаемом материале приведены данные собственных результатов экспериментальных исследований и анализ литературных данных по использованию наноматериалов в биоэлектромагнитных исследованиях. Основное внимание уделено роли жидкостных нановезикул (липосом) с функциями носителей лекарственных препаратов и их пролонгированного высвобождения в организме человека. В работе отмечена возможная роль наночастиц в изменении поверхностного мембранного потенциала клеток крови, которая может привести к электропорации клеточных мембран. Приведены данные по влиянию наночастиц на электродинамические характеристики клеточных суспензий, а также результаты использования наночастиц в радиочастотной и микроволновой термотерапии. Разработан эффективный метод расчета нелинейного динамического гистерезиса суперпарамагнитных наночастиц, находящихся под воздействием внешних ЭМП. Рассчитаны динамическая восприимчивость, намагниченность петли ДМГ (динамического магнитного гистерезиса) и их нормированные площади, обусловленные сильным переменным полем. Стационарный отклик на переменное поле демонстрирует низкочастотную релаксацию (из-за переходов между метастабильными состояниями) и высокочастотный ферромагнитный резонанс.

Ключевые слова: радио и микроволновое излучение, клеточные суспензии, наночастицы металлов, углеродные нанотрубки, поглощение радиочастотного излучения, электропорация мембран, диэлектрические свойства нормальной и злокачественной ткани, суперпарамагнитные частицы, нелинейный динамический гистерезис.

Применение наночастиц в биомедицинских областях исследовательского и прикладного характера в последние годы вызывает повышенный интерес. Использование нанотехнологий позволяет расширить использование лекарственных средств и увеличить эффективность действия фармацевтических препаратов. Размер наночастиц в области 100 нм позволяет использовать их для одновременной визуализации поврежденной ткани и адресной доставки фармацевтических препаратов. Основные преимущества использования наночастиц в медицине следующие: защита клеток от губительного действия лекарственных средств; улучшение фармакинетики лекарственных препаратов и повышение их фармакологической эффективности; защита лекарственных средств от деградации; селективное проникновение из крови в ткани, что приводит к избирательной их концентрации в очаге поражения; позволяет создавать водорастворимую форму ряда гидрофобных лекарств, повышая их биодоступность. Кроме того, наш интерес к этой области исследований заключается в изучении возможностей использования радио и микроволновых излучений для нагрева опухолевых тканей, обработанных наноматериалами, для разрушения раковых клеток при минимизации нагрева здоровых клеток. С 70-х годов апробировался и внедрялся в медицинскую практику метод радиочастотной гипертермии. Однако, несмотря на значительные усилия, приложенные в этом направлении, до настоящего времени остается еще ряд трудно разрешимых вопросов, связанных с защитой здоровых клеток от перегрева и сложностями равномерного нагрева онкологических тканей до нужной температуры, особенно, если они расположены на большой глубине. Эти и другие проблемы не позволяют на сегодняшний день довести метод радиочастотной гипертермии до уровня стандартного и самостоятельного метода лечения в онкологии [1,2]. В начале 21-го века был предложен новый подход к проблеме радиочастотной гипертермии в онкологии. В основу этой технологии было положено использование нетермозависимых эффектов бета-дисперсионного диапазона электромагнитного излучения (ЭМИ), основанных на селективном поглощении радиочастотной энергии, внеклеточном нагреве, дестабилизации мембран патологических клеток, модуляции излучения 13,5 МГц [3].

Второй подход связан с возможностью селективной термосенсибилизации патологических клеток. Согласно известным литературным данным [4] с этой ролью могли бы справиться наночастицы, интенсивно поглощающие радиочастотное излучение и способные селективно связываться с онкоклетками.

Микроволновое излучение может использоваться не только в качестве термосенсибилизатора раковых клеток, но и для синтеза наночастиц на основе углерода. Например, деривация углеродных нанотрубок [5] и получение окиси графена [6].

В нашей работе использовались липосомы (жидкостные нановезикулы), которые представляют собой одну из разновидностей наночастиц с функциями носителей лекарственных препаратов и их пролонгированного высвобождения. Работа по созданию липосомальных форм лекарственных препаратов началась более сорока лет

назад и на сегодняшний день известно более сотни липосомальных препаратов, как находящихся на стадии клинических испытаний, так используемых в практической медицине. Мы изучали влияние липосомальной формы липоевой кислоты (ЛК) на функциональную активность тромбоцитов, используя метод проточной цитофлуориметрии. Рассматриваются также возможности переменных магнитных полей и ЭМИ оптического диапазона интенсивно поглощаться наночастицами.

Создание и применение липосом составляет одно из перспективных направлений современной бионанотехнологии. Липосомы нагружают лекарственными средствами и в этом качестве они взаимодействуют с мембранами клеток и, таким образом, передают клетке лекарственный препарат.

Липосомы обладают всеми преимуществами наночастиц и превосходят большинство из них по высокой фармацевтической эффективности и наиболее низкой токсичности. Липосомальные структуры получают при растворении высушенных фосфолипидов в водном растворе. Полученные многослойные везикулы с помощью экструзии преобразуют в однослойные везикулы размером порядка 100 нм. Липосомы, полученные таким способом более устойчивы к окислению. Загрузка лекарственного вещества в липосомы может осуществляться различными методами: образованием липидной пленки с присоединением к ней липофильной лекарственной субстанции с последующей гидратацией в водной среде; гидратация липидной пленки водным или буферным раствором с включением в нее липофильной лекарственной субстанции; методом химического градиента ионов. После формирования липосом, содержащих лекарственный препарат, возникает необходимость разделения смеси, состоящей из лекарства и «нагруженных» липосом.

Как показывает опыт, наиболее предпочтительным является процесс ультрафильтрации липосомального препарата для отделения несвязавшегося лекарственного средства. В большинстве случаев липосомы используются при лечении рака для повышения противоопухолевой активности и снижения токсичности. Привлекательным свойством является пролонгированность действия лекарства и возможность переноса липосомами нестабильных лекарственных препаратов, например, лекарств на основе платины. Необходимо отметить также эффект улучшенной проницаемости и удержания (EPR-эффект; enhanced permeability and retention), т.е. явление повышенной проницаемости и накопления доставленных липосомами лекарств в опухолевые ткани за счет крупных пор в опухолевых кровеносных сосудах и значительного межклеточного интервала в злокачественных тканях (опухолевые сосуды обычно имеют аномальную форму и структуру, за счет дефектов в эндотелиальных клетках, для которых характерно наличие широких фенестраций и отсутствие гладкомышечного слоя). Кроме того, длительные экспериментальные исследования показали снижение множественной лекарственной устойчивости клеток при использовании лекарств на основе липосом. Установлено, что липосомы размером 160 нм и менее способны проникать через гематоэнцефалический барьер, в отличие от химиотерапевтических препаратов.

В доклинических исследованиях на крысах было показано, что содержание доксорубина после введения липосомальной формы в имплантированной опухоли мозга было в 14 раз выше, чем после введения доксорубина в свободной форме [7]. Подобные данные показывают возможность лечения опухолей blastomы или терапии больных с метастазами в головной мозг используя липосомальные формы доксорубина [8]. Медленное высвобождение молекул доксорубина из липосом позволяет избежать возникновения значительной концентрации лекарства в плазме крови, что благоприятно сказывается на безопасности пациента. Развитие липосомальных технологий и изучение их фармакологической и противоопухолевой активности доказывают перспективность создания данной формы для применения в клинике при лечении опухолей различной этиологии [9].

В качестве источника микроволнового излучения использовался генератор на основе диода Ганна с частотой в диапазоне от 32,9 до 39,6 ГГц (длина волны, соответственно, от 9,1 до 7,6 мм) и мощностью излучения от 3 до 30 мВт. Установка микроволнового облучения обеспечивала подведение излучения к исследуемому объекту с помощью открытого конца волновода сечением 7,2x3,4 мм² с согласующими элементами. Осуществлялся контроль режима бегущей волны, мощности микроволнового излучения и длины волны излучения. Образцы подвергались микроволновому воздействию в ближнем поле рупорной антенны на расстоянии 11 см от открытого конца волновода, т.е. в ближней зоне облучателя. Образцы перемешивали осторожным пипетированием (встряхиванием) каждые 5 мин. Температуру в образцах измеряли с использованием волоконно-оптического микротермодетектора МТ-4МО (Россия) с точностью 0,05 °С.

Мультиламеллярные везикулы (МЛВ), содержащие ЛК, получали методом пассивной загрузки, путём диспергирования липидной плёнки. Исходное количество липидов (40 мг ФХ) растворяли в этанольном растворе, содержащем 5 мг ЛК, и упаривали растворитель на роторном испарителе. Липидную пленку диспергировали в 1 мл фосфатного буферного раствора со значением рН 7,4, после чего облучали микроволнами (длина волны 7,7 мм, 39 ГГц) в течение 15, 30, 45 минут. Затем получали одноламеллярные везикулы (ОЛВ) методом экструзии, используя поликарбонатный ядерный фильтр с диаметром пор 100 нм. Отделение ОЛВ с включенной в них субстанцией от свободного препарата проводили методом гель-хроматографии на сорбенте Sephadex G-25. Содержание ЛК в липосомах определяли спектрофотометрическим методом после их разрушения этанолом.

Измерения времени свертывания крови проводили с помощью анализатора показателей гемостаза АПГ-01 Минилаб 701 (Россия). 25 мкл суспензии ОУНТ в PBS или PBS (контроль) помещали в кювету прибора, добавляли к ним 275 мкл цельной крови. Затем пробу инкубировали в течение 3 мин при 37 °С. Маленький стальной шарик (нагретый до 37 °С) помещали в кювету, добавляли 15 мкл 1,29 % CaCl₂ в (0,9 % NaCl) и сразу вслед за этим включали кнопку прибора, запускающую перемешивание и измерение времени коагуляции. После

остановки шарика, прибор регистрировал время, которое является временем свертывания крови или коагуляции (образования тромба).

Мы изучали вопросы сосудисто–тромбоцитарного гемостаза человека с участием липосомальных наночастиц (липосомальной формы липоевой кислоты (ЛК) как перспективной модели для изучения биологического действия КВЧ излучения. Добавление арахидоновой кислоты к нативным тромбоцитам (Тц) приводило к увеличению проницаемости мембран тромбоцитов, а, следовательно, к быстрому высвобождению макроструктурных компонентов (гранул) клеток. Пустые фосфатидилхолиновые липосомы (ФХ-липосомы), как и липосомы с ЛК приводили к уменьшению высвобождения тромбоцитарных гранул, вследствие стабилизации липидного бислоя мембраны клеток и уменьшения их текучести [10]. Поэтому из полученных данных исследований можно сделать вывод о том, что липосомальные формы снижают скорость деградации Тц по сравнению с водорастворимыми препаратами ЛК. Добавление водорастворимых форм ЛК (ЛК в фосфатном буферном растворе, рН = 7,4 и этилендиаминовая соль ЛК) способно в незначительной степени влиять на изменение интенсивности свечения Тц, а также на уровень процессов окисления и ферментативной активности в клетках. Это указывает на то, что, как и ФХ-липосомы, так и ЛК-липосомы оказывают влияние на метаболические и энергетические процессы, протекающие внутри Тц. Наиболее значительный эффект на метаболические и энергетические процессы, протекающие внутри Тц, оказывают липосомы, содержащие ЛК. Липиды, входящие в состав липосом при взаимодействии с Тц, по-видимому, встраиваются в мембрану клеток и понижают энергетический статус за счет антиоксидантного действия (компенсация окисленных липидов в мембране Тц клеток). При взаимодействии Тц с ЛК происходит встраивание липидов липосом в мембрану клеток, и высвобождение ЛК внутрь цитоплазмы клеток, в которых под воздействием клеточных ферментов происходит восстановление ЛК до дигидролипоевой кислоты. Дигидролипоевая кислота, в свою очередь оказывает антиоксидантное действие при протекании окислительных процессов в клетке, снижает уровень окисленных флавопротеинов, тем самым, поддерживая окислительно-восстановительный статус. На основании предварительных экспериментальных результатов было обнаружено, что ЛК приблизительно на 40 % включалась в ФХ-липосомы при КВЧ-облучении, что, в два раза ниже контроля (без воздействия КВЧ-облучения). Скорее всего, полученные результаты исследований можно объяснить тем, что в результате КВЧ-облучения суспензии липосом происходили изменения в бислоевой упаковке липидных молекул в модельной биомембране.

Основопологающей работой в области радиочастотной гипертермии, стимулированной наночастицами можно считать публикацию [11], в которой авторы продемонстрировали новое свойство ОУНТ, связанное с поглощением радиочастотного излучения наночастицами в среде онкоклеток, и которое предлагалось использовать в онкотерапии для осуществления термической деструкции злокачественных клеток. Экспериментальная работа заключалась в том, что водорастворимые ОУНТ, введенные в опухоли экспериментальных животных, подвергали воздействию ЭМП частотой 13,56 МГц при контроле температуры нагрева с помощью регистрации ИК излучения тепловизором. Три клеточные линии рака предстательной железы человека инкубировали с различными концентрациями ОУНТ, а затем обрабатывали ЭМП. Цитотоксичность измеряли с помощью флуоресцентной активированной сортировки клеток. В печеночные опухоли у кроликов вводили ОУНТ и подвергали воздействию ЭМП. Опухоли собирали через 48 часов для оценки жизнеспособности. Через 48 часов все обработанные ОУНТ и радиочастотным ЭМП опухоли продемонстрировали полный некроз, тогда как контрольные опухоли, которые обработали ЭМП без ОУНТ или ОУНТ без ЭМП, оставались частично жизнеспособными. Авторы этой работы задаются вопросом: каким образом, относительно небольшая концентрация нанотрубок может так сильно увеличивать радиочастотный нагрев образца? Поскольку длина волны радиочастотного облучения (приблизительно 22 м для частоты 13,56 МГц) значительно превышает длину нанотрубки, составляющей примерно от 300 нм до 1 нм, электродинамические условия далеки от возможного резонанса.

Энергия радиочастотного излучения слишком мала для возбуждения электронных переходов в полупроводящих ОУНТ. В качестве простого объяснения предлагается наличие резистивной проводимости ОУНТ и высокое соотношение длины к диаметру трубки (от 300 до 1000). Теоретический расчет показывает, что при концентрации 50 мг/л при интенсивности излучения 15 кВ/м, прогнозируемая скорость нагрева составляет 0,4 °С в секунду и имеет тот же порядок, который наблюдается в эксперименте. Кроме того, высокая скорость нагрева может быть связана с самосборкой ОУНТ в более длинные нанотрубки под действием радиочастотного излучения. Авторы утверждают, что наблюдали линейную сборку нанотрубок вдоль направления вектора напряженности ЭМП [12].

Эти результаты впервые продемонстрировали возможности ОУНТ как средства лечения злокачественных опухолей с помощью радиочастотной термоабляции. С клинической точки зрения, важно, что раковые клетки, как правило, более подвержены тепловому повреждению по пути апоптоза, чем здоровые. Эту особенность необходимо использовать для обеспечения летального термического повреждения злокачественных клеток при сохранении здоровых клеток. В конечном счете, появляется надежда, что такие исследования приведут к возможности инициирования клинических испытаний с использованием нового подхода для онкологических больных.

В наших экспериментах при изучении воздействия микроволнового излучения на процессы коагуляции крови в присутствии однослойных углеродных нанотрубок (ОУНТ) были получены следующие предварительные результаты. Для исследований использовали венозную кровь здоровых доноров, взятую с 3.8 % цитратом в

качестве антикоагулянта. Измерения времени свертывания крови проводили с помощью анализатора показателей гемостаза АПГ-01 Минилаб 701 (Россия). 25 мкл суспензии ОУНТ в PBS или PBS (контроль) помещали в кювету прибора, добавляли к ним 275 мкл цельной крови. Затем пробу инкубировали в течение 3 мин при 37 °С. Маленький стальной шарик (нагретый до 37 °С) помещали в кювету, добавляли 15 мкл 1,29 % CaCl_2 в (0,9 % NaCl) и сразу вслед за этим включали перемешивание и измерение времени коагуляции. После остановки шарика, прибор регистрировал время, которое является временем свертывания крови или коагуляции (образования тромба).

В первом опыте контрольное время коагуляции составило 303 сек. Время коагуляции в опытном эксперименте при КВЧ облучении составило 540 сек. В дальнейшем мы сократили время выдержки образца в контроле и КВЧ облучении. В этом случае контрольное время коагуляции составило 265 сек. Соответствующее время коагуляции при КВЧ облучении было зафиксировано на уровне 485 сек. В опыте с нанотрубками контрольное время коагуляции цельной крови составило 249 сек, а при включении КВЧ облучения – 293 сек. И, наконец, заключительный эксперимент с КВЧ облучением цельной крови показал контрольное время коагуляции 325 сек, а в опыте – 466 сек.

Таким образом, наши предварительные эксперименты по изучению действия КВЧ облучения и одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) на время коагуляции образцов цельной крови показали существенное влияние на этот процесс электромагнитного воздействия и более слабое действие присутствия в объекте ОУНТ (не более 20 %). Дальнейшие опыты, возможно, позволят оптимизировать условия эксперимента для повышения воспроизводимости данных и эффективности воздействия наночастиц.

Выбор золотых наночастиц в эксперименте для изучения возможности их использования в качестве мишени в радиочастотной гипертермии определяется несколькими причинами: во-первых, накоплен достаточно большой опыт использования золотых наночастиц в различных биомедицинских приложениях; во-вторых, коллоидное золото и соединения из золота имеют долгую историю использования в организме человека; в-третьих, золотые наночастицы легко синтезировать и охарактеризовать в связи с наличием признака поверхностного плазмонного резонанса; кроме того, модификация поверхности золотых наночастиц (прикрепление биомолекул в том числе белков/антител, лекарственных препаратов и ДНК) не вызывает затруднений; также они имеют достаточно большую площадь поверхности, что позволяет загружать их различными лекарственными соединениями на одну частицу, а самое главное, они являются биологически совместимыми и, в большинстве случаев, при физиологических концентрациях не вызывают заметных токсических эффектов. Опыты *in vitro* и *in vivo* (в пробирке и в естественных условиях) подтвердили отсутствие хронической биохимической и гематологической токсичности у мышей после введения золотых наночастиц размером 1,9 нм. Все эти качества золотых наночастиц делают их весьма привлекательными для целей гипертермии.

Накопление наночастиц внутри патологических клеток или около них может осуществляться пассивным или же активным способом. В случае пассивного способа не модифицированные наночастицы локализуются в месте патологии вследствие пространственно обусловленных эффектов. Активный способ основан на применении наночастиц, модифицированных специфическими молекулами, способствующими доставке их к патологическим клеткам. Эффективная термическая терапия опухолей подразумевает согласование длины волны излучения и максимума поглощения излучения золотыми наноструктурами при спектральной прозрачности биоткани, границы которой находятся в пределах ближнего ИК излучения 750-1100 нм.

Использование золотых наностержней и нанооболочек позволяет перестраивать плазмонный резонанс в широком диапазоне путем изменения соотношения между диаметром ядра и толщиной оболочки золотой наночастицы [13]. Результаты теоретических и экспериментальных исследований, выполненных в данной работе на животных, показали влияние золотых наночастиц на существенное увеличение температуры облучаемого объекта в непрерывном и импульсном режимах.

К исследованию механизмов подобных эффектов можно отнести экспериментальную работу по изучению воздействия золотых наночастиц на липидную модель клеточной мембраны, в результате которой было обнаружено увеличение мембранной проводимости для наночастиц [14]. Для контроля эксперимента применялся метод нейтронной рефлектометрии, позволяющей вести наблюдение слоя липидов без его разрушения. Использовались наночастицы из золота (диаметром 2 нм) двух типов: к поверхности одних прикреплялась катионная группа, а к другим - анионная. В итоге выяснилось, что реакция мембраны на наночастицы с разным зарядом радикально отличается. Катионные наночастицы проникали через мембрану, дестабилизируя её структуру. Напротив, анионные наночастицы не преодолевали мембрану и даже затрудняли её структурные изменения в условиях повышенного рН.

Объяснить наблюдаемые эффекты дестабилизации клеточных мембран с участием металлических заряженных наночастиц мы попытались с помощью теории электрического пробоя, предложенной в нашей работе [15]. Чрезвычайное сходство феноменологии пробоя клеточных и искусственных мембран указывает на то, что при электрическом пробое биомембран процесс образования и развития проводящих дефектов происходит в липидном бислое.

Теоретический анализ изменения энергии сферической везикулы с порой при диффузионной разности потенциалов показал, что в условиях близких к реальным диффузионный пробой носит обратимый характер, т.е. пора с течением непродолжительного времени закрывается, чтобы вновь открыться после достижения пороговой разности концентраций заряженных частиц во внутри и внеклеточной среде.

Известно, что в основе патологических процессов, связанных с неспецифическим увеличением проницаемости мембран, лежат четыре фундаментальных механизма: 1) перекисное окисление липидов (ПОЛ) в мембранах; 2) активация мембранных фосфолипаз; 3) растяжение мембран в результате осмотического набухания везикулярных структур; 4) аномальная адсорбция белков на мембране [16].

К 4-му механизму теперь можно добавить, согласно нашим представлениям, и механизм адсорбции наночастиц металлов на клеточной мембране. Связывание наночастицы металла с клеточной мембраной должно приводить к снижению поверхностного натяжения последней и, соответственно, к понижению энергетического барьера порообразования, а также наведению дополнительного локального электрического поля (увеличению мембранного потенциала). Механизм уменьшения потенциала пробоя, состоит в снижении потенциального барьера образования пор, которое может происходить, во-первых, за счет изменения поверхностного натяжения мембраны и энергии изгиба кромки поры, во-вторых – изменения поверхностного заряда мембраны (при адгезии заряженных наночастиц), таким образом, увеличивая напряженность внутримембранного электрического поля. В наших экспериментах мы обнаружили модификацию активности клеток крови при добавлении в суспензию наночастиц золота [17], а в других опытах – наночастиц серебра [18].

Влияние наночастиц золота размером 60 нм на систему гемостаза человека проявлялось в активации тромбоцитов и нейтрофилов. На основе сведений, представленных в монографии [19] наночастица золота размером 2 нм способна активировать только 1 мембранный рецептор и поэтому не способна стимулировать эндоцитоз. В случае размера наночастицы около 40 нм имеет место одновременное воздействие на несколько рецепторов, что приводит к активации процесса эндоцитоза. При этом авторы утверждают, что при 70 нм размер частицы превосходит геометрические габариты выпуклости клеточной мембраны, что исключает процесс эндоцитоза.

Экспериментально установлено влияние наночастиц серебра размером 25 нм на активацию клеток иммунной системы (нейтрофилов), которая сопровождается образованием активных форм кислорода. Установлен также антиагрегационный эффект этих наночастиц при действии на тромбоциты. Результаты этих экспериментов показывают роль золотых и серебряных наночастиц, которая заключается в изменении поверхностного заряда на мембранах клеток крови, тем самым меняя их поверхностный мембранный потенциал, что согласно приведенному выше механизму электропорации клеток, стимулирует проводимость мембранной системы за счет образования пор с соответствующими физиологическими последствиями. С этой точки зрения можно рассматривать результаты работы [20], в которой показана роль наночастиц серебра и переменного электрического поля в уничтожении патогенных клеток с помощью механизма электропорации мембран.

В работе исследуется стационарный отклик на внешнее переменное поле произвольной напряженности ферромагнитных наночастиц со смешанной одноосной и кубической анизотропией. С помощью модели непрерывной диффузии ориентаций Брауна исследована нелинейная восприимчивость намагнетиков, указанного типа. Кривые динамического магнитного гистерезиса наночастиц рассчитаны в широком диапазоне напряженностей полей, их ориентаций, температуры среды и параметра анизотропии. Продемонстрирована существенная зависимость петли динамического магнитного гистерезиса от перечисленных параметров.

В условиях воздействия внешнего электромагнитного поля магнитная наночастица используется в гипертермии, нагревая клетки опухолей или как средство повышения эффективности химиотерапии, или лучевой терапии, когда мягкая степень нагревания ткани способствует более эффективному разрушению злокачественных образований. Данные о скорости поглощения электромагнитной энергии наночастицами SAR (specific absorption rate) позволяют, наряду с величиной температуры Кюри, значением насыщения удельной намагниченности, биосовместимости и др. паспортизовать препараты магнитных наночастиц для терапевтических целей.

Была разработана теоретическая база для расчета нелинейного стационарного отклика на воздействие переменным полем произвольной величины и ориентации системы магнитных наночастиц, что позволяет определять частоты резонансов наночастиц и площадь петли динамического гистерезиса в зависимости от параметров системы [21, 22]. В наших работах всесторонне исследован стационарный отклик ферромагнитных наночастиц со смешанной (одноосной и кубической) анизотропией в условиях тепловых флуктуаций. Рассчитаны динамическая восприимчивость, намагниченность, петли ДМГ и их нормированные площади, обусловленные сильным переменным полем. Стационарный отклик на переменное поле всегда демонстрирует низкочастотную релаксацию (из-за переходов между метастабильными состояниями) и высокочастотный ферромагнитный резонанс. Показано, что нелинейная динамическая восприимчивость, так и ДМГ очень чувствительны как к ориентации переменного поля ψ , так и к амплитуде переменного поля благодаря взаимовлиянию между прецессией магнитного момента и его переориентациями из-за тепловых флуктуаций. Эта взаимосвязь присутствует только для магнитной анизотропии, не обладающей круговой симметрией. Получено, что при соответствующих условиях небольшое (по сравнению с внутренним полем анизотропии) внешнее постоянное поле может существенно влиять на форму петлю ДМГ магнитных наночастиц. Таким образом, изменяя постоянное поле, можно контролировать выделение тепла (энергетические потери) в наночастицах. Результаты справедливы для полей произвольной силы и ориентации, они получены путем строгого решения задачи о вынужденном отклике наночастиц со смешанной анизотропией. Результаты согласуются с ранее опубликованными результатами для частных случаев одноосных наночастиц и частиц с кубической анизотропией. Предполагалось, что межчастичные взаимодействия незначительны. Это условие приводит к тому, что результаты могут применяться только к системам, где взаимодействия могут быть проигнорированы,

например, к разбавленным суспензиям. Для снятия этого ограничения в работе [23] разработана методика расчета восприимчивости системы магнитных наночастиц при наличии парных взаимодействий между частицами.

Итак, показано, что липосомы, содержащие липоевую кислоту (ЛК) оказывают значительный эффект на метаболические и энергетические процессы, протекающие внутри тромбоцитов (Тц). При взаимодействии Тц с ЛК происходит встраивание липидов липосом в мембрану клеток, и высвобождение ЛК внутрь цитоплазмы клеток, в которых под воздействием клеточных ферментов происходит восстановление ЛК до дигирилопоевой кислоты, которая оказывает антиоксидантное действие при протекании окислительных процессов в клетке, снижая уровень окисленных флавопротеинов. Микроволновое излучение оказывало ингибирующее действие на процесс встраивания ЛК в липосомы.

Установлено, что наночастицы веществ, которые вводятся в организм человека с различными целями, могут заметно изменить радиочастотное поглощение тканей и жидкостей, что приведет к дополнительному разогреву и соответствующим физиологическим последствиям. Благодаря контролируемой форме поверхности и ее модификации, наночастицы металлов и углеродных нанотрубок способны сцепляться с заранее выбранным видом клеток, отличаясь от здоровых. Связываясь с патологическими клетками и не затрагивая нормальные, такие наночастицы при радиочастотном облучении, дают достаточный локальный разогрев, который способен уничтожить патологические клетки. Эти данные могут оказаться очень важными для использования наночастиц в терапии тяжелых заболеваний. Показана роль золотых и серебряных наночастиц в модификации клеточных физиологических процессов в экспериментах с клетками крови человека. На основании полученных экспериментальных результатов предложен механизм электропорации клеток крови человека с учетом влияния наночастиц металлов. Представленный в данной работе модуляционный метод онкотермии использует мембранотропные эффекты внешнего электромагнитного поля для уничтожения злокачественных клеток и создает перспективу дальнейшего развития радиочастотной гипертермии. Новые методы в радиочастотной онкотерапии, возможно, откроют следующую страницу термотерапии тяжелых заболеваний. Однако, не следует забывать о проблеме деградации и выведения наночастиц из организма человека после завершения лечебных процедур [24]. Представлены результаты теоретических исследований стационарного отклика на внешнее переменное поле произвольной напряженности ферромагнитных наночастиц со смешанной одноосной и кубической анизотропией. Рассчитаны динамическая восприимчивость, намагниченность петли ДМГ и их нормированные площади, обусловленные сильным переменным полем. Стационарный отклик на переменное поле всегда демонстрирует низкочастотную релаксацию (из-за переходов между метастабильными состояниями) и высокочастотный ферромагнитный резонанс.

Работа выполнялась в рамках госзадания ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН по теме «РЭЛДИС».

Список литературы / References:

1. Roussakow S. The History of Hyperthermia Rise and Decline. Hindawi. Conference of the International Clinical Hyperthermia Society, 2012, Conference Paper, 2013, Article ID 428027, DOI: 10.1155/2013/428027.
2. Szasz A, Szasz O, Szasz N. Electrohyperthermia: a new paradigm in cancer therapy. *Deutsche Zeitschrift für Onkologie*, 2001, vol. 33, pp. 91-99.
4. Ren F. J. et al. Current progress on the modification of carbon nanotubes and their application in electromagnetic wave absorption. *RSC Adv*, 2014, vol. 4, pp. 14419-14431.
5. Calcio Gaudino E, Tagliapietra S, Martina K, et al. Novel SWCNT platform bearing DOTA and β -cyclodextrin units. "One shot" multidecoration under microwave irradiation. *Org Biomol Chem.*, 2014, vol. 12, pp. 4708-4815.
6. Bosca F, Orio L, Tagliapietra S, Corazzari I, Turci F, Martina K, Pastero L, Cravotto G et al. Microwave-Assisted Synthesis and Physicochemical Characterization of Tetrafuranylporphyrin- Grafted Reduced-Graphene Oxide. *Chem Eur J.*, 2016, vol. 22, pp. 1608-13.
7. Кулик Г.И., Пономарева О.В., Король В.И., Чехун В.Ф. Токсичность и противоопухолевая активность липосомальной лекарственной формы доxorубина. *Онкология*, 2004, т. 6, с. 207-214. [Kulik G.I., Ponomareva O.V., Korol V.I., Chekhun V.F. Toxicity and antitumor activity of the liposomal dosage form of doxorubicin. *Oncology*, 2004, vol. 6, pp. 207-214. (In Russ.)]
8. Гельперина С.Э., Швец В.И. Системы доставки лекарственных веществ на основе полимерных наночастиц. *Биотехнология*, 2009, № 3, с. 8-23. [Gelperina S.E., Shvets V.I. Drug delivery systems based on polymer nanoparticles. *Biotechnology*, 2009, no. 3, pp. 8-23. (In Russ.)]
9. Швец В.И., Краснопольский Ю.М., Сорокоумова Г.М. Липосомальные формы лекарственных препаратов: технологические особенности получения и применения в клинике. М.: Ремедиум, 2016, 226 с. [Shvets V.I., Krasnopolsky Yu.M., Sorokoumova G.M. *Liposomal forms of drugs: the technological features of the preparation and use in the clinic*, 2016, M.: Remedium, 226 p. (In Russ.)]
10. Щелконогов В.А., Сорокоумова Г.М., Баранова О.А., Чеканов А.В., Ключкова А.В., Казаринов К.Д., Соловьева Э.Ю., Федин А.И., Швец В.И. Липосомальная форма липоевой кислоты: получение и определение антиагрегационной и антиоксидантной активности. *Биомедицинская химия*, 2016, т. 62, вып. 5, с. 577-583. [Shchelkonogov V.A., Sorokoumova G.M., Baranova O.A., Chekanov A.V., Klochkova A.V., Kazarinov K.D., Solovieva E.Yu., Fedin A.I., Shvets V.I. Liposomal form of lipoic acid: preparation and determination of antiplatelet and antioxidant activity. *Biomedical Chemistry*, 2016, vol. 62, no. 5, pp. 577-583. (In Russ.)]

11. Gannon C.J., Cherukuri P., Yakobson B.I., Cognet L., Kanzius J.S., Kittrell C., Weisman R.B., Pasquali M., Schmidt H.K., Smalley R.E., Curley S.A. Carbon nanotube-enhanced thermal destruction of cancer cells in a noninvasive radiofrequency field. *Cancer*, 2007, vol. 110(12) pp. 2654-2665.
12. Nair T., Symanowski, and Gach H.M. Comparison of Complex Permittivities of Isotonic Colloids Containing Single-Wall Carbon Nanotubes of Varying Chirality. *Bioelectromagnetics*, 2012, vol. 33, pp. 134-146.
13. Gannon Ch. J., Patra Ch. R., Bhattacharya R., Mukherjee P. and Curley S. A. Intracellular gold nanoparticles enhance non-invasive radiofrequency thermal destruction of human gastrointestinal cancer cells. *Journal of Nanobiotechnology*, 2008, vol. 6, p. 2. DOI: 10.1186/1477-3155-6-2.
14. Tatur S., Maccarini M., Barker R., Nelson A., and Fragneto G.. Effect of Functionalized Gold Nanoparticles on Floating Lipid Bilayers. *Langmuir*, 2013, vol. 29 (22), pp. 6606-6614.
15. Malinin V.S., Putvinsky A.V., Kazarinov K.D. Calcium dependent Activation of Human Blood Neutrophils Electric Fields Pulses. - In: Electricity and magnetism in Biology and Medicine. *Plenum Publishing Corporation*, N.Y., 1999, pp. 569-572.
16. Пучкова Т.В., Путвинский А.В., Владимиров Ю.А. Снижение электрической прочности как основной механизм нарушения барьерной функции биомембран. *Докл. АН СССР*, 1983, т. 270, № 6, с. 1489-1492. [Puchkova T.V., Putvinsky A.V., Vladimirov Yu.A. Decrease in electric strength as the main mechanism of violation of the barrier function of biomembranes. *Dokl. USSR Academy of Sciences*, 1983, vol. 270, no. 6, pp. 1489-1492. (In Russ.)]
17. Chekanov A.V., Baranova O.A., Levin A.D., Solov'eva E.Yu., Fedin A.I., Kazarinov K.D. Influence of gold nanoparticles on activation of human blood neutrophils. *Biophysics*, 2013, vol.58, Issue 3, pp. 385-388.
18. Чеканов А.В., Соловьева З.Ю., Бабушкин А.В., Мудров В.П., Стамм М.В., Баранова О.А., Федин А.И., Казаринов К.Д. Влияние наночастиц серебра на активацию нейтрофилов. Медицинский алфавит. *Современная лаборатория*, 2014, № 4, с. 50-53. [Chekanov A.V., Solov'eva Z.Yu., Babushkin A.V., Mudrov V.P., Stamm M.V., Baranova O.A., Fedin A.I., Kazarinov K.D. Vliyanie nanochastic serebra na aktivaciyu nejtrofilov. *Medicinskij alfavit. Sovremennaya laboratoriya*, 2014, no. 4, pp. 50-53. (In Russ.)]
19. Моргалев Ю.Н., Моргалева Т.Г., Хоч Н.С., Моргалев С.Ю. *Основы безопасности при обращении с наноматериалами*. Томск: ТГУ, 2010, 138 с. [Morgalev Yu.N., Morgaleva T.G., Khoch N.S., Morgalev S.Yu. *Safety basics for handling nanomaterials*. Tomsk: TSU, 2010, 138 p. (In Russ.)]
20. E. Dolat, O. Rajabi, S. S. Salarabadi, S. Yadegari-Dehkordi, A. Sazgarni. Silver nanoparticles and electroporation: Their combinational effect on *Leishmania major*. *Bioelectromagnetics*, 2015, vol. 36, (8), pp. 586-596.
21. Kalmykov Yu.P., Titov S.V., Coffey W.T., Dowling W.J. Finite-barrier correction for the ferromagnetic resonance frequency of nanomagnets with various magnetocrystalline anisotropies. *Phys.Rev. B.*, 2018, vol. 97, p. 224418. DOI: 10.1103/PhysRevB.97.224418.
22. Kalmykov Yu.P., Titov S.V., Coffey W.T., Zarifakis M., Dowling W.J., Forced response and dynamic hysteresis of magnetic nanoparticles with mixed uniaxial and cubic anisotropy in superimposed strong ac and dc bias fields. *Phys.Rev. B.*, 2019, vol. 99, p. 184414. DOI: 10.1103/PhysRevB.99.184414.
23. Kalmykov Yu.P., Titov S.V., D.J. Byrne, Coffey W.T., Zarifakis M., Al Bayyari M.H., Dipole-dipole and exchange interaction effects on the magnetization relaxation of two macrospins: compared. *JMMM*, 2020, vol. 507, p. 166814. DOI: 10.1016/j.jmmm.2020.166814
24. Hou J., Wan B., Yang Y., Ren X.M., Guo L.H., Liu J.F. Biodegradation of Single-Walled Carbon Nanotubes in Macrophages through Respiratory Burst Modulation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17 (3), pii: E409, DOI: 10.3390/ijms17030409.

THE ROLE OF NANOPARTICLES IN THE STUDY OF THE BIOLOGICAL SENSITIVITY OF ELECTROMAGNETIC RADIATION IN THE RADIO AND MICROWAVE RANGE**Kazarinov K.D.¹, Chekanov A.V.², Polnikov I.G.¹, Titov S.V.¹**¹ Kotelnikov Institute of Radioengineering and Electronics
*Vvedensky sq., 1, Fryazino, 141190, Russia; e-mail: kazarinov@ms.ire.rssi.ru*² Russian National Research Medical University (RNRMU),
Ostrovitianov str., 1, Moscow, 117997, Russia

Abstract. The proposed material presents data from our results of experimental investigations and analysis of published data on the use of nanomaterials in bioelectromagnetic studies. The main attention is paid to the role of liquid nanovesicles (liposomes) with the functions of drug carriers and their sustained release in the human body. It is assumed that the antiplatelet action of the liposomal form of LA (lipoic acid) is induced by inhibition of the initiation of lipid peroxidation products. Microwave radiation had an inhibitory effect on the process of incorporation of LA into liposomes. The possible role of nanoparticles in changing surface membrane potential of blood cells is noted in the paper, it may lead to electroporation of cell membranes. The information of nanoparticles effect on electrodynamic characteristics of cellular suspensions is given, the results of using nanoparticles in radio microwave thermotherapy are shown. An effective method has been developed for calculating the nonlinear dynamic hysteresis of superparamagnetic nanoparticles under the influence of external electromagnetic fields. The results of theoretical studies of the stationary response to an external ac field of arbitrary strength of ferromagnetic nanoparticles with mixed uniaxial and cubic anisotropy are presented. The nonlinear dynamic susceptibility, dynamic magnetic hysteresis loops and their normalized areas are calculated. The stationary response to an alternating field demonstrates low-frequency relaxation (due to transitions between metastable states) and high-frequency ferromagnetic resonance.

Key words: *radio and microwave radiation, cell suspensions, metal nanoparticles, carbon nanotubes, absorption of radio frequency radiation, electroporation of membranes, dielectric properties of normal and malignant tissue, superparamagnetic particles, nonlinear dynamic hysteresis.*