

DOI: <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2026.3.8>

УДК: 57.085.2+616-006+621.373

ВЛИЯНИЕ МОЩНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИМПУЛЬСОВ НАНОСЕКУНДНОЙ ДЛИТЕЛЬНОСТИ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В СИСТЕМЕ *IN VITRO*

В.А. Вдовин¹, А.Д. Плютинская², А.А. Панкратов³, М.С. Воронцова²,
С.А. Сапецкий¹, Р.А. Денисов¹, В.А. Черепенин¹

¹ИРЭ им. В.А.Котельникова РАН,
125009, Москва, ул. Моховая, д.11, корп.7

²Московский научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена, филиал Национального медицинского исследовательского
центра радиологии, Минздрава России,
125284, ул. 2-й Боткинский проезд, д. 3

³Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии
им. Н.А. Лопаткина, филиал Национального медицинского исследовательского
центра радиологии, Минздрава России,
105425, Москва, 3-я Парковая ул., 51, стр. 1

Статья поступила в редакцию 30 марта 2026 г.

Аннотация. В контексте оценки использования наносекундных электромагнитных импульсов для лечения злокачественных новообразований проводятся экспериментальные исследования на клетках карциномы лёгкого Льюиса (LLC). Для области воздействия, представляющей собой находящийся между электродами экспериментальной установки микропланшет с биологическим материалом (опухолевыми клетками), составляется эквивалентная электрическая схема, производится анализ трансформации импульса на нагрузке и численная оценка характерных физических величин. Приводятся результаты биологических экспериментов в системе *in vitro* по воздействию наносекундными импульсами на опухолевые клетки культуры LLC, где отмечается как собственное цитотоксическое действие применяемых импульсов, приводящее к значимому

ингибированию пролиферации опухолевых клеток, так и увеличение эффективности при сочетанном применении с противоопухолевым препаратом Цисплатин-Тева. Исследуется также зависимость цитотоксического эффекта от частоты повторения подаваемых электрических импульсов.

Ключевые слова: наносекундные импульсы, электропорация, апоптоз, ингибирование пролиферации, МТТ-тест.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН.

Автор для переписки: Владимир Александрович Вдовин, vdv@cplire.ru

Введение

Последние 20 лет активно изучаются новые методы борьбы с различными заболеваниями с использованием физических факторов, в частности, рассматривается применение воздействия на биологические объекты коротких электромагнитных импульсов. Так, к настоящему времени достаточно подробно изучено и описано влияние ультракоротких импульсов электрического поля высокой интенсивности в биологии и медицине [1]. В последние годы благодаря появлению новых компонентных составляющих открылась возможность использовать источники мощных электромагнитных импульсов, которые позволяют генерировать импульсы в нано- и субнаносекундном диапазоне для воздействия на различные объекты биологической природы. Такие ультракороткие импульсы сочетают высокое значение напряжённости электрического поля с малой длительностью, за счёт чего значение энергии одного импульса достаточно мало.

Общепризнанной интерпретацией влияния ультракоротких импульсов на клетку является теория электропорации – появления пор в мембране клетки под действием сильного электрического поля, что сопровождается повышением значения электропроводимости. Электропорация бывает обратимой и необратимой, оба варианта отличаются тем, что в первом случае поры в мембране закрываются через некоторое время после воздействия (от нескольких

микросекунд до минут) [2]. Милли- и микросекундные электрические импульсы, инициирующие электропорацию, активно задействуются в экспериментах (например, в экспериментах на клетках дрожжей [3]) и к настоящему времени подробно исследованы, так что особый интерес представляет дальнейшее уменьшение длительности воздействующих импульсов. Так, было выявлено, что нанопоры, образующиеся при воздействии наносекундных импульсов, отличаются стабильностью и позволяют импульсам проникать внутрь клетки, оказывая влияние на органеллы и другие составляющие элементы [4,5] и провоцируя различные внутриклеточные эффекты, например, высвобождение ионов кальция Ca^{2+} [6]. На основе электропорации предлагается также определять диэлектрические свойства отдельных клеток [7]. Также благодаря воздействию и возникающей электропорации возможна инициация различных механизмов клеточной гибели (некроз, апоптоз и т. д.) [8], которые можно регулировать с помощью внешнего изменения среды клеток [9]. Полученная информация о результирующих эффектах даёт возможность рассматривать воздействие наносекундными импульсами для применения в медицине: в частности, для терапии различных видов злокачественных новообразований [10], для лечения кожных [11] и сердечных заболеваний [12], а также для доставки генов [13]. Данный метод нашел применение в пищевой промышленности, для обеззараживания пищевых продуктов, и сельском хозяйстве [14].

Важную роль в подобном импульсном воздействии играет непосредственно система подачи импульсов на биологический объект (например, на злокачественную опухоль). Традиционно для этой цели используются электроды разных форм со своими преимуществами и недостатками, основные конструкции которых описаны в работе [15]: так, игольчатые электроды положительно отличаются от других тем, что их можно напрямую ввести в объект для точечного воздействия, однако это нарушает его целостность; в то время как параллельные пластинчатые электроды позволяют обеспечить равномерное распределение электрического поля по нагрузке, но не могут быть использованы для обработки слишком глубоко расположенных и недоступных

без вскрытия объектов. Среди предложенных вариантов конструкций предлагаются также распределённые наноэлектроды, представляющие собой золотые наночастицы, которые вводятся в обрабатываемую биологическую ткань [16]. Важную роль играет также расположение и ориентация электродов, что может нивелировать некоторые нежелательные биологические эффекты при определённых параметрах воздействия [17]. Предлагаются также и другие способы доставки импульсов на объект, такие как широкополосные антенны [18], коаксиальные волноводы [19], а также специальные устройства-электропораторы [20]. Таким образом, подбор системы подачи импульсов зависит от поставленной задачи и объекта воздействия.

Не менее значимым является вопрос о влиянии физических характеристик импульсов, подающихся на биологический объект. В частности, рассматривается вопрос о том, какие эффекты при воздействии зависят от формы приложенного импульса. Так, было обнаружено, что некоторые биологические эффекты в клетках, вызванные электропорационным импульсным воздействием, могут быть отменены или уменьшены путём подачи на объект импульса обратной полярности [21]. В качестве продолжения этих исследований, в работе [22] исследуется возможность применения биполярных и мультифазных импульсов варьирующейся длительности вместо монополярных с целью эксплуатации этого эффекта, и рассматриваются разные виды генераторов, способных создавать такие типы импульсов. Помимо этого, рассматриваются вопросы о различиях при воздействии импульсами симметричной и асимметричной формы [23]. Разделяется также воздействие радио- и видеоимпульсами: проводится численное моделирование с целью изучения электропоративной реакции биполярных радиоимпульсов на здоровые и опухолевые клетки в зависимости от рабочей частоты [24]. Особо выделяемым направлением исследованием считается укорочение длительности импульсов, в частности, до пикосекундной [25]. Таким образом, задача подбора необходимых характеристик импульсов для воздействия на биологические объекты остаётся одной из самых широко обсуждаемых и исследуемых в данной области.

В последние годы активно проводятся эксперименты по воздействию ультракороткими импульсами на биологические объекты: животных с прививаемыми опухолями [26-29] и на опухолевые клетки [30-33]. Следует отметить, что при оценке эффективности данного метода, в первую очередь, отмечают биологические механизмы и явления, сопутствующие импульсному воздействию, а физические механизмы влияния наносекундных электрических импульсов на биологические объекты остаются изученными не в полной мере. Так, например, в теоретических работах активно применяются методы молекулярной динамики [34-35].

В наших предыдущих работах мы сфокусировались на экспериментальном исследовании, учитывающем трансформацию импульсов при воздействии на биоподобные среды [36-37]. Обычно этот факт не учитывается при постановке экспериментов. Мы предлагаем подход, который позволяет провести анализ такой трансформации путём численного оценивания с помощью метода эквивалентных схем. В данной работе он использован в эксперименте *in vitro* на клетках мышечной карциномы легкого Льюис (LLC) в рамках сбора данных для дальнейшего выработки общей картины механизма воздействия.

1. Материалы и методы

1.1 Экспериментальная установка.

Схема экспериментальной установки для исследования нетеплового воздействия мощных импульсов на биологические среды показана на рис. 1. В работе используется высоковольтный генератор FID Technology наносекундных импульсов (1), с выхода которого по высоковольтному коаксиальному кабелю (3) импульсы амплитудой до 60 кВ и длительностью 5 нс поступают на электроды: верхний электрод (4) в форме диска диаметром 50 мм и нижний электрод в форме чашки (6). Между электродами, которые образуют плоский конденсатор, помещается микропланшет с суспензией опухолевых клеток (5). Для контроля амплитуды и формы поступающих на него импульсов к электродам подключен высокочастотный высоковольтный щуп-делитель напряжения Актаком АСА-6039 (7), с выхода

которого уменьшенные по напряжению в 1000 раз импульсы поступают на вход цифрового осциллографа Infinium MSO9404 (8). В процессе работы высоковольтный генератор формирует на выходе импульс при поступлении на его вход внешней синхронизации задающих низковольтных импульсов от внешнего источника (2), генератора RIGOL DG4102, который может работать как в режиме одиночных импульсов, так и с задаваемой частотой повторения.

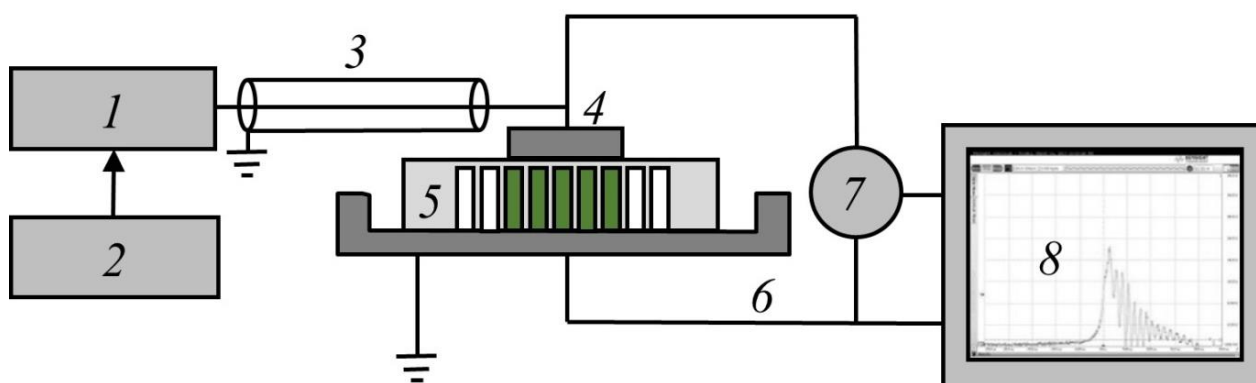


Рис. 1. Схема экспериментальной установки: 1 – высокочастотный генератор мощных импульсов, 2 – задающий генератор, 3 – высоковольтный коаксиальный кабель, 4 – верхний электрод (диск), 5 – микропланшет с образцом, 6 – нижний электрод (чашка), 7 – ВЧ щуп-делитель напряжения, 8 – цифровой осциллограф.

Микропланшет с образцом представляет собой пластиковую коробку высотой 16,5 мм, внутри с шагом 9 мм расположены 96 цилиндрических лунок высотой 10,5 мм и диаметром 6,5 мм. Матрица из 5×5 лунок в центре микропланшета заполняется биологическим материалом и помещается в чашку-электрод так, чтобы верхний электрод полностью закрывал эту матрицу (см. рис. 2). Лунки занимают не весь объем микропланшета: есть воздушно-пластиковые промежутки сверху, снизу и между лунками. Они существенно ослабляют степень воздействия на образец высоковольтных импульсов, подаваемых на электроды.

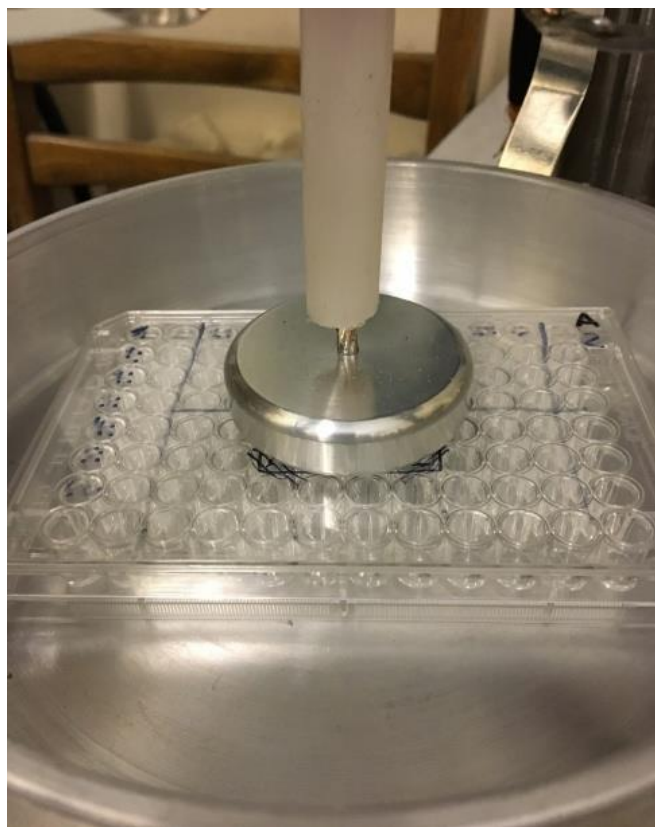


Рис. 2. Общий вид схемы воздействия: микропланшет с высоковольтным электродом.

Метод эквивалентных схем. Чтобы оценить, какая часть напряжения и тока поступает непосредственно на биологический материал, микропланшет можно представить в виде эквивалентной электрической схемы (см. рис. 3). Здесь образец (лунки с биологическим материалом), обладающий суммарной емкостью C_3 и суммарным сопротивлением R_2 , соединен последовательно с воздушно-пластиковыми промежутками сверху и снизу лунок, что на эквивалентной схеме упрощенно показано общей областью сверху с суммарной емкостью C_2 . Параллельно этой цепочке подключен конденсатор C_1 , представляющий собой суммарную емкость вертикальных промежутков между лунками. Импульсное напряжение подаётся с генератора G через волновое сопротивление кабеля R_1 . Напряжение на микропланшете (цепочка элементов C_1, C_2, C_3, R_2) контролируется высоковольтным щупом-вольтметром V .

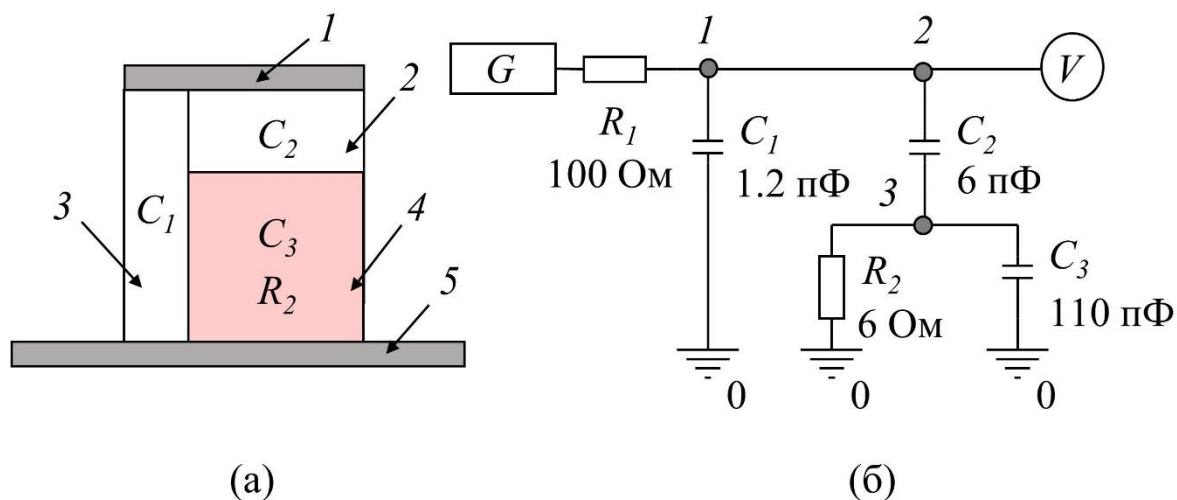


Рис. 3. Объёмная (а) и электрическая (б) эквивалентные схемы микропланшета с биологическим образцом. 1 – верхний электрод (диск), 2 – воздушно-пластиковые зазоры снизу и сверху от лунок в микропланшете (на рисунке упрощённо показано только сверху), 3 – воздушно-пластиковые зазоры между лунками в планшете, 4 – лунки с биологическим материалом, 5 – нижний электрод (чашка).

Численные значения элементов эквивалентной схемы можно оценить следующим образом. R_1 – волновое сопротивление кабеля известно и равно 100 Ом. C_1 – суммарная ёмкость зазоров между лунками – исходя из геометрических размеров, а именно соотношения суммарных площадей сечения лунок и общей площади сечения микропланшета, составляет часть ёмкости цилиндрического конденсатора, площадь сечения которого задаётся верхним электродом, расстояние между обкладками – толщиной микропланшета, зажатого между электродами.

Ёмкость такого конденсатора с пустым микропланшетом C_0 была измерена напрямую измерителем Instek LCR-810 и равнялась 3 пФ. Таким образом, $C_1 = 0.4 \times C_0 = 1.2$ пФ. Суммарную ёмкость зазоров снизу и сверху от лунок C_2 можно оценить по соотношению величин этих зазоров и толщины микропланшета, поэтому она равна $2C_0 = 6$ пФ. Численные коэффициенты в вышеуказанных формулах выбраны из геометрических соображений с учётом формы микропланшета.

Чтобы определить значения C_3 и R_2 (суммарную ёмкость и электрическое сопротивление лунок с биологическим материалом соответственно), была

использована кювета в форме параллелепипеда, на торцах которого расположены электроды. Кювета заполнялась исследуемым биологическим материалом в виде раствора, и его емкость и сопротивление были измерены напрямую измерителем Instek LCR-810. Зная внутреннюю длину, ширину и высоту заполненной части кюветы, а также суммарную площадь сечения лунок под верхним электродом и их высоту, можно вычислить искомую $C_3 = 110$ пФ по формуле $C = (\varepsilon \times \varepsilon_0 \times S)/d$. Формула для сопротивления образца среды аналогична по структуре формуле его же ёмкости (только зависимость от геометрических параметров обратная): $R = (1/\sigma) \times (d/S)$. По ней вычисляется сопротивление R_2 , значение которого равняется 6 Ом.

Биологические объекты. В экспериментах использовались следующие материалы:

- среда RPMI 1640, L-глутамин, эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС), растворы Хэнкса и Версена (ПанЭко, Россия). Реагенты – 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5 дифенилтетразолия бромида (МТТ) и диметилсульфоксид (ДМСО) (Sigma, США);
- культуральные флаконы (25 см²), центрифужные пробирки (15 и 50 мл), 24- и 96-луночные культуральные планшеты, наконечники и другие расходные материалы для культивирования клеток – продукция фирмы Costar (США).

Изучение воздействия электрическими импульсами (ЭИ) проводили на клетках мышинной карциномы легкого Льюис (LLC), полученных из коллекции клеточных культур банка CLS (Германия). Для культивирования клеток использовали среду RPMI 1640 с добавлением L-глутамина и 10 % эмбриональной телячьей сыворотки. Клетки культивировали при 37 °С во влажной атмосфере с 5 % содержанием углекислого газа в CO₂-инкубаторе (стандартные условия). Пассирование опухолевых клеток проводили согласно рекомендациям, указанным в сертификате культуры клеток. В работе использовали клетки от 3 до 10 пассажей (см. рис. 4). Из химических препаратов использовался

Цисплатин-Тева (Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Израиль) 0,5 мг/мл, концентрат для приготовления раствора для инфузий, 100 мл.

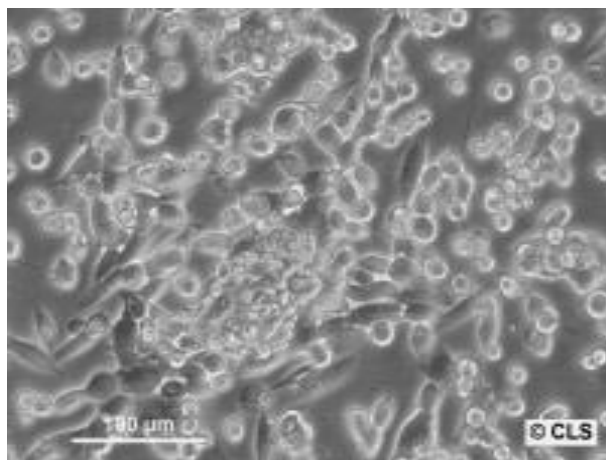


Рис. 4. Клеточная культура карциномы легкого Льюис мыши (культура LLC).

Для проведения экспериментов по оценки цитотоксического действия ЭИ клетки рассевали в 96-луночные микропланшеты в количестве 15×10^4 кл/мл. Инкубировали 20-24 часа в стандартных условиях и проводили электромагнитное воздействие с выбранными параметрами поля (напряжённость электрического поля порядка 24 кВ/см; частота следования импульсов: 1, 5, 10, 25, 50 и 200 Гц; суммарное количество импульсов: 100, 500, 10 000, 25 000, 50 000). Для оценки эффективности сочетанного применения ЭИ и препарата Цисплатин-Тева относительно опухолевых клеток, после электромагнитного воздействия проводили 3-х часовую инкубацию в стандартных условиях и далее вносили Цисплатин-Тева в последовательных разведениях в триплетах. Концентрация химиопрепарата варьировалась от 0,03 мкг/мл до 80 мкг/мл. Далее все планшеты помещали в CO₂-инкубатор на 24 часа. Оценку выживаемости клеток проводили как визуально, оценивая с помощью световой микроскопии морфологические изменения клеток, так и колориметрическим методом с использованием МТТ-теста, который основан на восстановлении бесцветной соли тетразолия митохондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами живых метаболически активных клеток с образованием голубых кристаллов формазана. Число жизнеспособных клеток прямо пропорционально количеству

восстановленного формазана, которое измеряется спектрофотометрически после растворения в органическом растворителе.

Для этого из лунок планшета удаляли среду инкубации и вносили по 200 мкл среды без ЭТС. Далее вносили по 20 мкл 0,5 % раствора 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенилтетразолия бромиды, предварительно растворенного в растворе Хэнкса, и инкубировали планшеты 2 часа при 37 °С в CO₂-инкубаторе. После завершения инкубации, среду отбирали и вносили в лунки по 100 мкл диметилсульфоксида (ДМСО). Планшет помещали на шейкер для лучшего растворения образовавшихся кристаллов (2-3 минуты). Оптическую плотность раствора формазана в лунках измеряли на многоканальном планшетном ридере ($\lambda = 550$ нм). Уровень ингибирования роста клеток вычисляют по формуле:

$$\text{ИП}(\%) = \frac{(\text{ОП}_k - \text{ОП}_o)}{\text{ОП}_k} \times 100\%,$$

где ИП – уровень ингибирования роста клеток в культуре; ОП_o – оптическая плотность раствора формазана в опытных лунках; ОП_k – оптическая плотность раствора формазана в контрольных лунках.

Статистический анализ осуществляли с помощью компьютерных программ Microsoft Excel и OriginPro 8.0.

2. Результаты

Численная оценка эквивалентной схемы. Была выполнена численная оценка некоторых характерных физических величин из моделирования переходных процессов в схеме рис. 2. На вход G схемы подавался треугольный импульс с амплитудой 70 кВ и временем нарастания и спада по 3 нс, форма которого после прохождения коаксиального кабеля сглаживалась, а амплитуда падала до 58 кВ (см. рис. 5).

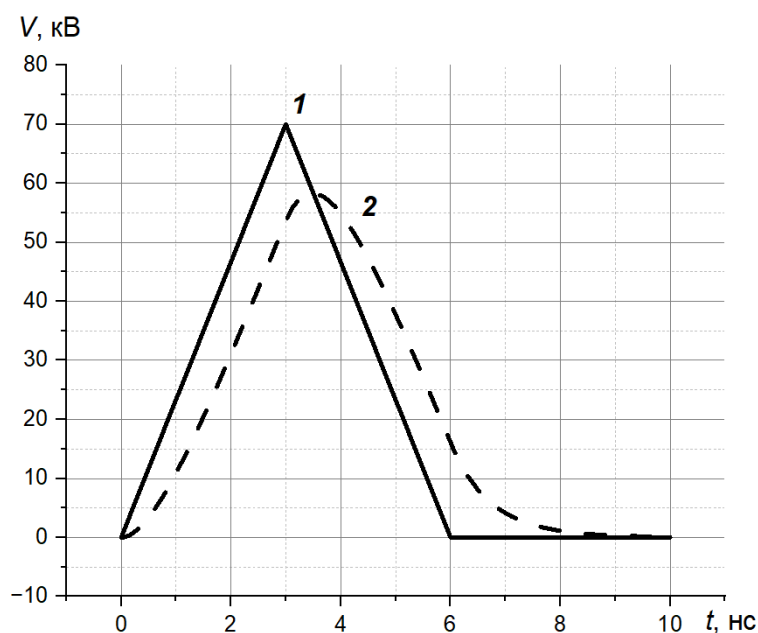


Рис. 5. Зависимость напряжения импульса на входе системы (1) после прохождения коаксиального кабеля (2) от времени.

Тогда после резистора R_1 на эквивалентной схеме он принимает форму, амплитуду и длительность, близкие к характеристикам импульса, наблюдаемого на осциллограмме, снятой с помощью высоковольтного щупа-делителя напряжения. Моделирование показало, что на лунках с биологическим материалом амплитуда напряжения падает почти на 2 порядка – до 780 В (см. рис. 6). Форма импульса при этом сильно искажается, он становится биполярным, так как напряжение поступает через малую ёмкость $C_2 = 6$ пФ.

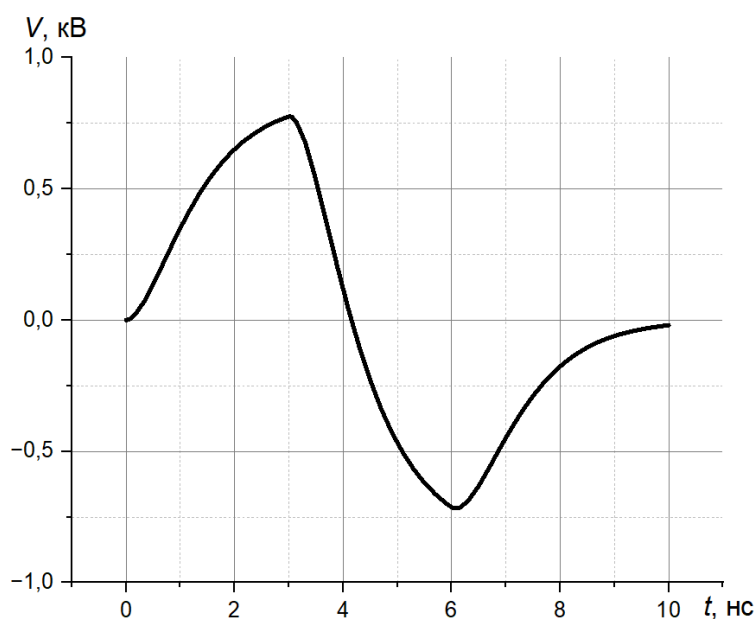


Рис. 6. Зависимость напряжения на биологической нагрузке от времени.

В схему поступает пиковая мощность 8.8 МВт, которая представляет собой произведение тока, проходящего по кабелю, и напряжения на генераторе (см. рис. 7).

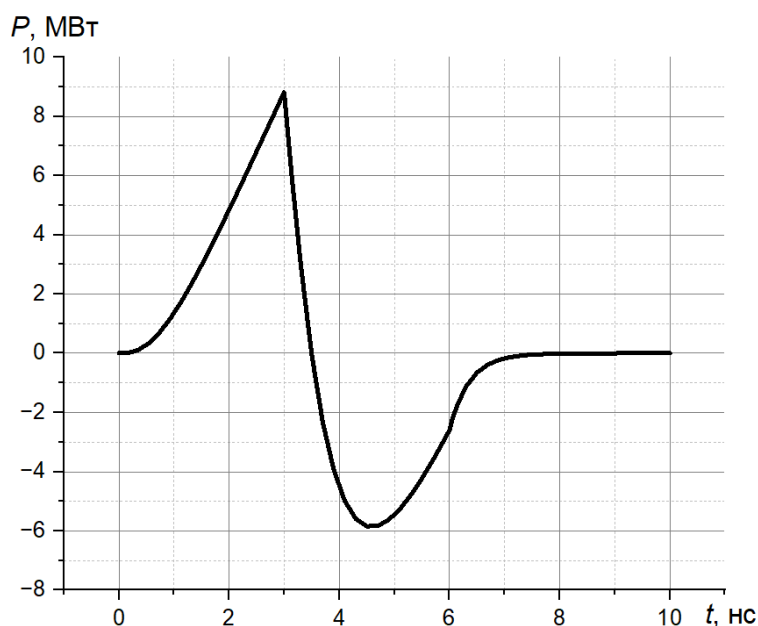


Рис. 7. Зависимость мощности одного импульса на входе системы от времени.

Она рассеивается на лунках в виде двух импульсов с пиками лишь 100 кВт и 86 кВт (см. рис. 8). Первый максимум мощности достигается в точке 3 нс, когда напряжение на выходе генератора также достигает максимума, а второй – в точке 6 нс за счет тока разряда C_2 , который затем экспоненциально спадает до 0.

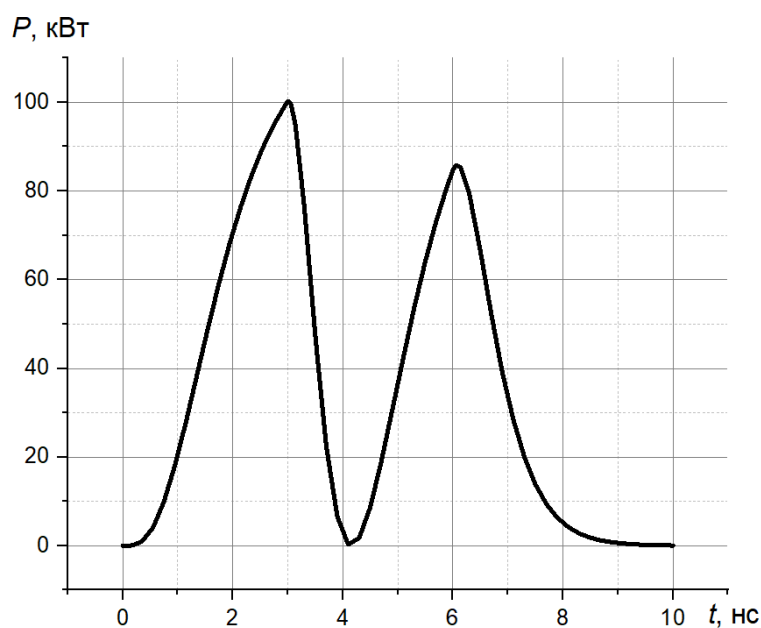


Рис. 8. Зависимость мощности импульса, рассеиваемого на биологической нагрузке, от времени.

Проинтегрировав зависимость мощности от времени, можно оценить энергию одного импульса: от генератора поступает 12.3 мДж (см. рис. 9), а 0.35 мДж (см. рис. 10) рассеивается в среде в виде тепла. Таким образом, настолько малая величина рассеиваемой на нагрузке энергии указывает на то, что воздействие можно считать нетепловым.

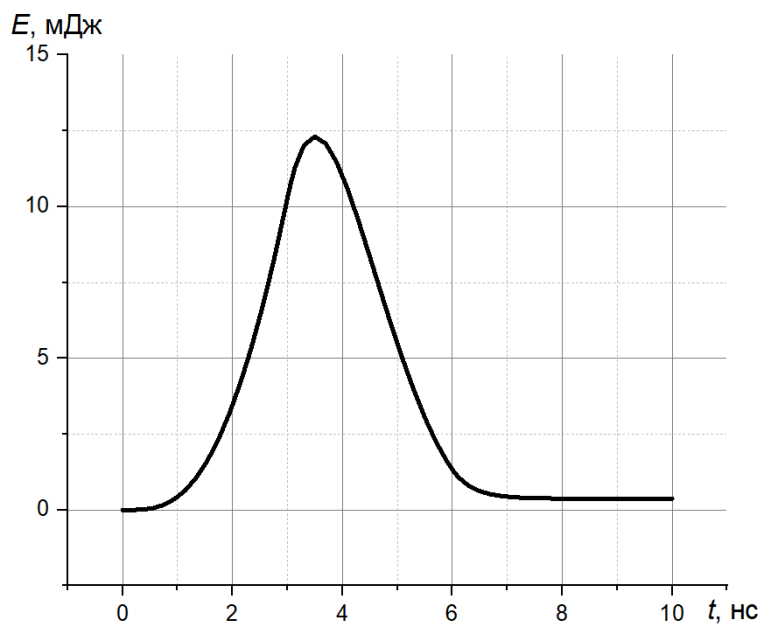


Рис. 9. Зависимость энергии одного импульса на входе системы от времени.

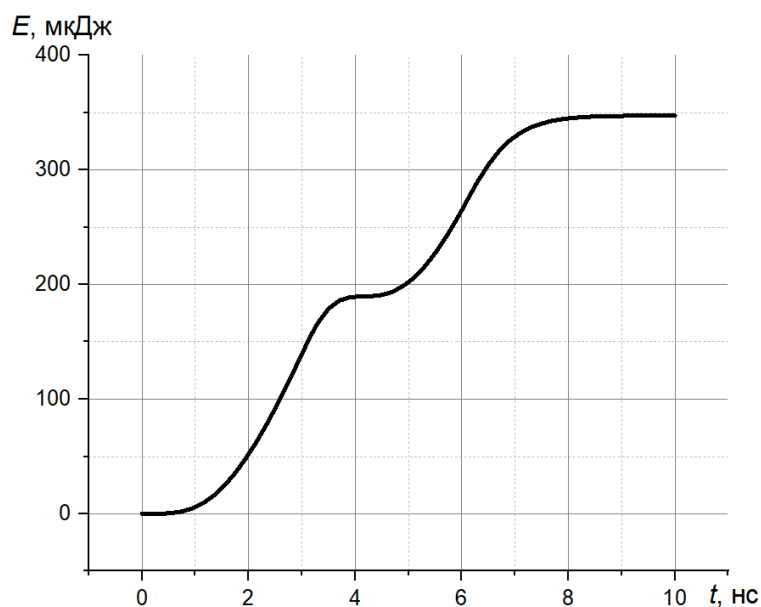


Рис. 10. Зависимость энергии импульса, рассеиваемого на биологической нагрузке, от времени.

Оценка цитотоксической активности ЭИ относительно опухолевых клетках в зависимости от частоты импульсов и их суммарного количества.

Данные, иллюстрирующие режимы, приводящие к тотальной деструкции и частичному повреждению опухолевых клеток в культуре, показаны в таблице 1.

Напряжённость электрического поля в каждом случае составляла ~ 24 кВ/см.

Таблица 1. Цитотоксическая активность ЭИ в зависимости от параметров физического воздействия *in vitro*.

Напряжённость поля, кВ/см	Режимы ЭИ воздействия		Ингибирование пролиферации, %
	Частота, имп/сек	Суммарное кол-во импульсов	
24	25	25 000	24 ± 7
	50	10 000	34 ± 6
	50	50 000	85 ± 2
	200	50 000	90 ± 4

Цитотоксическая активность ЭИ повышалась при увеличении частоты следования импульсов и суммарного количества импульсов за процедуру. Биологически значимых положительных эффектов при начальных режимах (1 имп/сек, 100 импульсов; 5 имп/сек, 500 импульсов; 10 имп/сек, 10 000 импульсов) не наблюдалось, поэтому в таблице они не отображены. Значимое влияние ЭИ воздействия стало заметным, начиная с частоты следования 25 имп/сек. Из исследованных режимах наибольшую гибель опухолевых клеток вызывало воздействие с параметрами 50 и 200 имп/сек и суммарном количеством импульсов 50 000 (ингибирование пролиферации опухолевых клеток (ИП) в культуре составило 85 ± 2 % и 90 ± 4 %, соответственно). Однако следует отметить, что ИП было сопоставимо и для дальнейшего изучения воздействия наносекундных импульсов относительно опухолевых клеток была использована частота 50 имп/сек.

Следует отметить, что уменьшение числа импульсов (до 10 000) при такой же частоте следования приводило к снижению ИП до 34 %.

Фотографии опухолевых клеток карциномы легкого Льюис до и после воздействия в различное время наблюдения представлены на рис. 11.

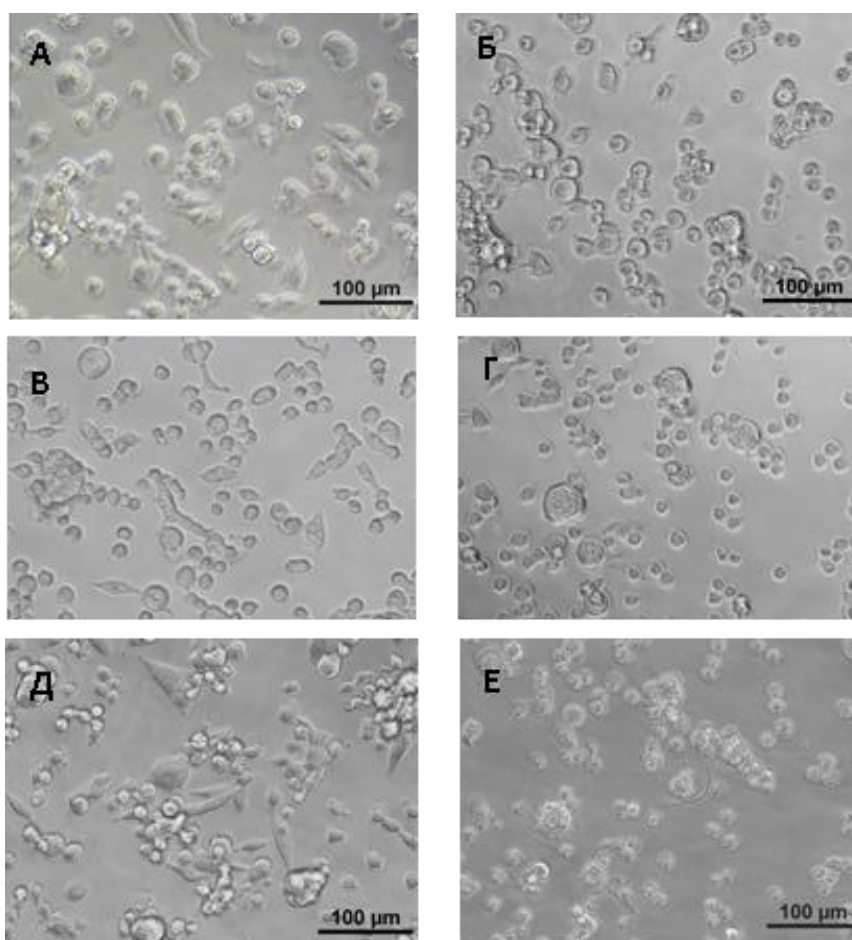


Рис. 11. Микрофотографии опухолевых клеток карциномы легкого Льюис до (слева) и после воздействия (справа).

Время после воздействия – 30 минут (А, Б), 3 часа (В, Г), 16 часов (Д, Е).

Параметры воздействия: частота следования импульсов – 50 имп/сек, суммарное количество импульсов – 50 000.

Отмечено, что культура клеток LLC до воздействия мощных электромагнитных импульсов наносекундной длительности представлена в виде субконфлюэнтного монослоя, клетки имеют преимущественно округло-овальную и умеренно веретенообразные формы, небольшие размеры (30-50 мкм). Ядра крупные, расположены центрально и занимающие практически всю цитоплазму.

После воздействия выявлено, что необратимые изменения в клетках нарастают с увеличением временного интервала. Так, в течение 3-х часов инкубации наблюдались незначительные изменения ядер клеток (уплотнение) и небольшое увеличение ошаренных клеток, с видимым нарастанием деструктивных изменений целостности цитоплазматической мембраны (блеббинг).

Через 16 часов инкубации выявлена тотальная гибель клеток культуры. Форма клеток изменена (перстневидная форма). Ядра округлой формы, сморщены, частично дефрагментированы, контуры ядер неровные, волнистые. Цитоплазма увеличена, деструктурирована (выход ядер за пределы цитоплазмы), что свидетельствует о необратимых повреждениях как внутриклеточных структур, так и цитоплазматической мембраны.

Таким образом, в системе *in vitro* были определены цитотоксические режимы ЭИ, приводящие к значительному ингибированию пролиферации клеток карциномы легкого Льюис в культуре на 85-90 %, а также режимы, при которых ингибирование пролиферации было умеренным и составило 24-34 %. При проведении морфологических исследований показано, что гибель опухолевых клеток в культуре происходит в течение 16 часов после воздействия ЭИ.

Оценка цитотоксического действия комбинированного применения ЭИ и препарата Цисплатин-Тева *in vitro*. Далее производилась оценка цитотоксического действия комбинированного применения ЭИ и препарата Цисплатин-Тева *in vitro*.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, комбинированное воздействие высокочастотных ЭИ наносекундной длительности с химиопрепаратом Цисплатин-Тева оказывало ингибирующее действие на опухолевые клетки культуры карциномы легкого Льюис (LLC). Следует отметить, что применение только препарата Цисплатин-Тева оказывало дозозависимый цитотоксический эффект относительно опухолевых клеток в культуре, а воздействие ЭИ в монорежиме не вызывало биологически значимой гибели клеток (ИП \leq 18 %). Выявлено, что наибольший (потенцирующий) эффект достигался при использовании ЭИ в режиме 25 имп/сек при их суммарном количестве 25 000 и концентрации препарата 40 мкг/мл (ингибирование пролиферации составляло 54 %). При других режимах комбинированного применения ЭИ и препарата Цисплатин-Тева наблюдалась суммация цитотоксического эффекта или незначительное потенцирование (при концентрации препарата Цисплатин-Тева 80 мкг/мл, частота импульсов 25 имп/сек и их суммарном количестве 25 000).

Таблица 2. Цитотоксическое действие комбинированного применения ЭИ и препарата Цисплатин-Тева в зависимости от параметров физического воздействия и концентрации цитостатика *in vitro* (культура опухолевых клеток карциномы легкого LLC).

№ п/п	Напряжённость поля, кВ/см	Частота импульсов, имп/сек	Суммарное кол-во импульсов	Концентрация Цисплатина-Тева, мкг/мл					Только ЭИ (контроль)
				80	50	40	12,5	3	
				Ингибирование пролиферации, %					
1	24	25	10000	65	42	34	27	2	2
2			25000	81	64	54	26	0	18
3		50	10000	66	–	31	–	2	12
4	Только Цисплатин-Тева (контроль)	–	–	53	35	19	12	5	–

Оценка выживаемости опухолевых клеток (культура LLC) после электромагнитного воздействия в зависимости от частоты повторения импульсов. Далее производилось исследование выживаемости опухолевых клеток после электромагнитного воздействия в зависимости от частоты повторения импульсов. Воздействие проводилось по параметрам, указанным в таблице 3.

Таблица 3. Параметры воздействия в исследованиях выживаемости опухолевых клеток после электромагнитного воздействия в зависимости от частоты повторения импульсов.

№ опыта	Напряжённость электрического поля, кВ/см	Суммарное количество импульсов	Частота повторения импульсов, имп/сек	Время воздействия
1	24	50 000	50	16 мин 40 сек
2			100	8 мин 20 сек
3			200	4 мин 10 сек

Электромагнитное воздействие проводилось через электрод диаметром 50 мм, поэтому внесение клеточной суспензии осуществлялось таким образом, чтобы электрод закрывал все лунки микропланшета с опухолевыми клетками. Далее оценивалась эффективность выбранных режимов воздействия с помощью МТТ-теста.

Результаты МТТ-теста представлены в таблице 4. В таблице даны средние значения оптической плотности, которые варьировались от лунки к лунке, что может быть связано с внутренними различиями в структуре обрабатываемой области микропланшетов и, в частности, связанными с этим отличающимися условиями пробоя в каждой из лунок. В целом наблюдалось, что оптическая плотность в обработанных ЭИ лунках заметно ниже, чем в необработанных контрольных лунках.

Таблица 4. Оптическая плотность в МТТ-тесте и вычисленное ингибирование пролиферации опухолевых клеток линии LLC в зависимости от режима воздействия

№ опыта	Частота повторения импульсов, имп/сек	Оптическая плотность, усл. ед.	Ингибирование пролиферации (ИП), %
1	50	140,6	79
2	100	181,5	73
3	200	122,3	82
Без воздействия	–	681,2	–

Вычисленные данные ингибирования пролиферации по воздействию ЭИ относительно опухолевых клеток культуры LLC для разных вариантов частоты повторения импульсов также представлены в таблице 4: 79 % для частоты повторения импульсов 50 имп/сек, 73 % для 100 имп/сек и 82 % для 200 имп/сек. Эти значения имеют разброс до ~11 %, так как вычислялись из значений оптической плотности, также имевших разброс, причины которого были указаны выше. Полученные данные также не позволяют вывести зависимость эффективности воздействия от частоты повторения импульсов для случая обработки раствора клеточной культуры LLC. Таким образом, зафиксировать явно выраженную тенденцию на данном этапе не представляется возможным.

3. Обсуждение

Теоретическое исследование трансформации импульса при воздействии на нагрузку (в виде микропланшета с биоматериалом) показало, что импульс претерпевает изменение формы с монополярной на биполярную, что также сопровождается уменьшением амплитуды на 1-2 порядка. Таким образом,

фактическое напряжение на объекте воздействия отличается от входного напряжения с генератора. Также стоит отметить, что значения мощности и энергии импульсов, рассеиваемых на нагрузке, достаточно малы, что позволяет утверждать о малозначительности теплового нагревания обрабатываемой области. Использованный метод эквивалентных схем можно применять в дальнейших исследованиях для качественной оценки форм и амплитуд импульсов внутри объекта воздействия.

В ходе экспериментального исследования в системе *in vitro* на опухолевых клетках карциномы легкого Льюиса мыши (культура LLC) установлено, что воздействие ЭИ при использовании определенных режимов оказывает цитотоксическое действие и увеличивает специфическую активность препарата Цисплатин-Тева. Так, определен режим воздействия ЭИ на опухолевые клетки, приводящий к значимому ингибированию пролиферации на $85 \pm 2 \%$, а также режимы воздействия ЭИ, при которых отмечалось торможение роста клеток на $24 \pm 7 \%$ и $34 \pm 6 \%$ (25 имп/сек при суммарном количестве импульсов 25 000 и 50 имп/сек и суммарном числе импульсов 10 000, соответственно).

В пилотных исследованиях по изучению влияния ЭИ на специфическую активность препарата Цисплатин-Тева было установлено, что превентивная обработка опухолевых клеток ЭИ в субцитотоксическом режиме повышала их чувствительность к химиопрепарату. Так, при применении препарата Цисплатин-Тева в концентрации 40 мкг/мл (ИП – 10%) после предварительного воздействия на клетки ЭИ (25 имп/сек при суммарном количестве импульсов 25 000; ИП – 15 %), отмечалось ингибирование пролиферации опухолевых клеток в 54 %. Выявлено, что при использовании других режимов, также отмечены высокие значения гибели клеток, однако это достигалось суммированием эффектов воздействия ЭИ и препарата Цисплатин-Тева. Однако при отдельном ЭИ воздействии не было определено явной зависимости эффектов от частоты повторения импульсов, так что данный вопрос требует дальнейшего изучения, в том числе с вероятным использованием другой схемы эксперимента.

В то же самое время, как видно из данных таблицы 2, при малых концентрациях Цисплатина-Тева при сочетанном применении с ЭИ (при определённых параметрах) ингибирование пролиферации имеет меньшее значение, чем при воздействии в монорежимах. Данный факт, вероятно, требует дополнительных исследований, что, несомненно, важно при планировании будущей экспериментальной работы и подборе оптимальных режимов воздействия.

Заключение

Полученные результаты позволяют судить о целесообразности дальнейших исследований по воздействию, в частности, о возможности применения наносекундных импульсов для обработки опухолевых клеток как независимо, так и в совокупности с химиопрепаратами с целью повышения их эффективности. Данные, полученные в результате экспериментов в системе *in vitro*, рекомендованы для более углубленного изучения в системе *in vivo* на животных с прививаемыми злокачественными опухолями.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН.

Литература

1. Beebe S. J. et al. Ultrashort electric pulse effects in biology and medicine. – New York: Springer, 2021.
2. Silkunas M., Silkuniene G., Pakhomov A. G. Real-time imaging of individual electropores proves their longevity in cells //Biochemical and biophysical research communications. – 2024. – Т. 695. – С. 149408.
3. Валиахметов А. Я., Шепеляковская А. О. Влияние глюкозы и сорбита на формирование электропор в плазматической мембране дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* //Биофизика. – 2018. – Т. 63. – №. 1. – С. 86-93.
4. Hu Q., Joshi R. P., Miklavčič D. Calculations of cell transmembrane voltage induced by time-varying magnetic fields //IEEE Transactions on Plasma Science. – 2020. – Т. 48. – №. 4. – С. 1088-1095.

5. Kim V. et al. Action spectra and mechanisms of (in) efficiency of bipolar electric pulses at electroporation //Bioelectrochemistry. – 2023. – Т. 149. – С. 108319.
6. Beebe S. J. et al. Nanosecond pulsed electric fields modulate cell function through intracellular signal transduction mechanisms //Physiological measurement. – 2004. – Т. 25. – №. 4. – С. 1077.
7. Trainito C. I. et al. Characterization of sequentially-staged cancer cells using electrorotation //PLoS One. – 2019. – Т. 14. – №. 9. – С. e0222289.
8. Napotnik T. B., Polajžer T., Miklavčič D. Cell death due to electroporation—a review //Bioelectrochemistry. – 2021. – Т. 141. – С. 107871.
9. Kiełbik A. et al. Urine protects urothelial cells against killing with nanosecond pulsed electric fields //Bioelectrochemistry. – 2023. – Т. 149. – С. 108289.
10. Vadalà M. et al. Mechanisms and therapeutic effectiveness of pulsed electromagnetic field therapy in oncology //Cancer medicine. – 2016. – Т. 5. – №. 11. – С. 3128-3139.
11. Newman J. et al. A dose-response study of nanosecond electric energy pulses on facial skin //Journal of cosmetic and laser therapy. – 2020. – Т. 22. – №. 4-5. – С. 195-199.
12. Xie F. et al. Ablation of myocardial tissue with nanosecond pulsed electric fields //PLoS One. – 2015. – Т. 10. – №. 12. – С. e0144833.
13. Ruzgys P. et al. Nanosecond range electric pulse application as a non-viral gene delivery method: Proof of concept //Scientific reports. – 2018. – Т. 8. – №. 1. – С. 15502.
14. Takaki K. et al. Pulsed power applications for agriculture and food processing //Reviews of Modern Plasma Physics. – 2021. – Т. 5. – №. 1. – С. 12.
15. Alshahat M. A. et al. Cancer treatment: An overview of pulsed electric field utilization and generation //Applied Sciences. – 2023. – Т. 13. – №. 18. – С. 10029.
16. Miklavcic D. et al. Contactless electroporation induced by high intensity pulsed electromagnetic fields via distributed nanoelectrodes //Bioelectrochemistry. – 2020. – Т. 132. – С. 107440.

17. Pakhomov A. G. et al. Interference targeting of bipolar nanosecond electric pulses for spatially focused electroporation, electrostimulation, and tissue ablation //Bioelectrochemistry. – 2021. – Т. 141. – С. 107876.
18. Xiao S. et al. A High-Power Dielectric Biconical Antenna for Treatment of Subcutaneous Targets //Bioelectromagnetics. – 2020. – Т. 41. – №. 6. – С. 413-424.
19. Petrov A. A. et al. The action of the pulsed electric field of the subnanosecond range on human tumor cells //Bioelectromagnetics. – 2022. – Т. 43. – №. 5. – С. 327-335.
20. Яковенко С. А., Трубицин Б. В. Электропоратор клеточных мембран с цифровой генерацией импульсов произвольной формы //Биофизика. – 2003. – Т. 48. – №. 3. – С. 480-498.
21. Pakhomov A. G. et al. Cancellation of cellular responses to nanoelectroporation by reversing the stimulus polarity //Cellular and molecular life sciences. – 2014. – Т. 71. – №. 22. – С. 4431-4441.
22. Xiao S. et al. Nanosecond bipolar pulse generators for bioelectrics //Bioelectrochemistry. – 2018. – Т. 123. – С. 77-87.
23. Novickij V. et al. Does the shape of the electric pulse matter in electroporation? //Frontiers in oncology. – 2022. – Т. 12. – С. 958128.
24. Baker C. et al. Selective Electroporation of Tumor Cells Under AC Radiofrequency Stimulation: A Numerical Study //IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2023. – Т. 71. – №. 1. – С. 114-121.
25. Zamponi M., Petrella R., Mollica P. A. Picosecond pulsed electric fields and promise in neurodegeneration research //Bioelectricity. – 2021. – Т. 3. – №. 3. – С. 176-185.
26. Novickij V. et al. Non-invasive nanosecond electroporation for biocontrol of surface infections: An in vivo study //Scientific Reports. – 2018. – Т. 8. – №. 1. – С. 14516.

27. Novickij V. et al. Electrochemotherapy using doxorubicin and nanosecond electric field pulses: A pilot in vivo study //Molecules. – 2020. – Т. 25. – №. 20. – С. 4601.
28. Wu S. et al. Nanosecond pulsed electric fields as a novel drug free therapy for breast cancer: an in vivo study //Cancer letters. – 2014. – Т. 343. – №. 2. – С. 268-274.
29. Nuccitelli R. et al. Nano-pulse stimulation induces changes in the intracellular organelles in rat liver tumors treated in situ //Lasers in Surgery and Medicine. – 2020. – Т. 52. – №. 9. – С. 882-889.
30. Silve A., Vezinet R., Mir L. M. Nanosecond-duration electric pulse delivery in vitro and in vivo: experimental considerations //IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement. – 2012. – Т. 61. – №. 7. – С. 1945-1954.
31. Szlasa W. et al. Effects of high-frequency nanosecond pulses on prostate cancer cells //Scientific Reports. – 2021. – Т. 11.
32. Silkuniene G. et al. Silencing of ATP1A1 attenuates cell membrane disruption by nanosecond electric pulses //Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2023. – Т. 677. – С. 93-97.
33. Vadlamani R. A. et al. Nanosecond pulsed electric field induced proliferation and differentiation of osteoblasts and myoblasts //Journal of the Royal Society Interface. – 2019. – Т. 16. – №. 155. – С. 20190079.
34. Li H. et al. Cellular processes involved in Jurkat cells exposed to nanosecond pulsed electric field //International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Т. 20. – №. 23. – С. 5847.
35. Kotnik T. et al. Membrane electroporation and electropermeabilization: mechanisms and models //Annual review of biophysics. – 2019. – Т. 48. – №. 1. – С. 63-91.
36. Vdovin V. A. et al. Technology of Experiments of Non-Thermal Effect of Powerful Electromagnetic Pulses on Natural and Artificial Environments //Journal of Communications Technology and Electronics. – 2023. – Т. 68. – №. 9. – С. 995-1001.

37. Вдовин В.А., Денисов Р.А., Сапецкий С.А., Черепенин В.А. Особенности экспериментов по воздействию интенсивных ультракоротких электрических импульсов на биоподобные среды. // Журнал радиоэлектроники. – 2024. – №. 9. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2024.9.6>

Для цитирования:

Вдовин В.А., Плютинская А.Д., Панкратов А.А., Воронцова М.С., Сапецкий С.А., Денисов Р.А., Черепенин В.А. Влияние мощных электромагнитных импульсов наносекундной длительности на опухолевые клетки в системе *in vitro*. // Журнал радиоэлектроники. – 2026. – №. 3. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2026.3.8>