https://doi.org/10.30898/1684-1719.2026.10.5

УДК: 577.352.26

Модификация электрической прочности липидных бислоев магнитными наночастицами при наносекундном импульсном воздействии

В.А. Черепенин[1], Г.Б. Хомутов[2], И.В. Таранов[1], И.В. Григорян[2], Е.Д. Борисова[3], В.В. Спиридонов[4], В.А. Вдовин[1], С.А. Сапецкий[1], А.А. Аносов[1,3]

[1]ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН,
Россия, Москва

[2]Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Россия, Москва

[3] Первый МГМУ им. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Россия, Москва

[4]Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Россия, Москва

Статья поступила в редакцию 20 октября 2026 г.

Аннотация. В работе исследовано влияние магнитных нанообъектов различной пространственной и физико-химической организации на электрическую прочность модельных плоских бислойных липидных мембран (БЛМ) из азолектина при воздействии ультракоротких наносекундных и микросекундных электрических импульсов. Обнаружено, что направленный транспорт и локальное концентрирование гидрофильных наночастиц магнетита Fe_3O_4 (размером 4 ± 1 нм, ζ-потенциал $+25 \pm 2$ мВ) на межфазной границе под действием неоднородного магнитного поля (13 мТл) приводит к аномальному росту устойчивости БЛМ к электрическому пробою. Пороговое напряжение необратимого разрушения бислоя увеличивалось до шести раз во всем диапазоне длительностей импульсов (от 10 нс до единиц миллисекунд), а зависимость амплитуды пробоя от времени трансформировалась из гиперболической в линейную. Напротив, введение

крупных полисахаридных нанокомпозитов на основе альгината натрия и маггемита (γ-Fe_2O_3, гидродинамический диаметр 160-290 нм) в магнитном поле 90 мТл не вызывало статистически значимого изменения электрической прочности БЛМ даже в условиях локального ферментативного гидролиза матрицы альгинат-лиазой. На основании предложенной эквивалентной электрической схемы и аналитической модели слоистой структуры показано, что наблюдаемый стабилизирующий эффект мелких наночастиц обусловлен формированием плоскопараллельных обкладок с высокой диэлектрической проницаемостью, эффективно экранирующих напряженность внешнего высокоинтенсивного импульсного поля в липидном матриксе.

Ключевые слова: бислойные липидные мембраны (БЛМ), наносекундные электрические импульсы (НСЭИ), наноэлектропорация, электрический пробой, магнитные наночастицы, магнетит, альгинатные нанокомпозиты.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 23-12-00125-П, https://rscf.ru/project/23-12-00125-П/

Автор для переписки: Таранов Игорь Владимирович, i.v.t@bk.ru

Введение

В последние годы значительный интерес в биомедицине привлекает технология наносекундного импульсного электрического воздействия, использующая сверхкороткие высокоинтенсивные электрические импульсы (НСЭИ) длительностью 10-1000 нс [1-4]. Было показано, что НСЭИ облегчают внутриклеточную доставку лекарственных веществ, вызывая кратковременное образование нанопор как в плазматических, так и во внутриклеточных мембранах [5-8]. Этот метод позволяет усиливать поглощение терапевтических агентов посредством механизмов, отличающихся от традиционной микросекундной электропорации [6, 8, 9]. Ключевые параметры воздействия, такие как длительность импульса, амплитуда, форма (биполярная или монополярная) и время введения лекарств, критически влияют на эффективность метода и жизнеспособность клеток [5, 8, 10].

В отличие от традиционной микросекундной электропорации, модифицирующей преимущественно плазматическую мембрану, НСЭИ способны одновременно воздействовать на внутриклеточные мембраны и органеллы (эндоплазматический ретикулум, митохондрии) [6, 11, 12]. Это открывает уникальные возможности для доставки лекарств, генной терапии и абляции раковых опухолей [6, 13]. Основными эффектами НСЭИ в клетках являются образование мембранных нанопор и активация ионных каналов, что приводит к увеличению концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме [6, 14, 15]. Данный приток кальция запускает его высвобождение из внутренних депо и активирует каналы, управляемые депо, имитируя физиологическую сигнализацию [15]. Это запускает каскад реакций: от апоптоза (посредством активации каспаз, экстернализации фосфатидилсерина и стресс-киназных путей PERK и GCN2) до клеточной дифференцировки и пролиферации [15, 16]. Способность НСЭИ создавать нанопоры без значительного термического повреждения делает их перспективным инструментом для преодоления лекарственной устойчивости [6]. Метод находит применение в стерилизации пищевых продуктов, проращивании семян, заживлении ран, модуляции экспрессии генов и терапии рака [6].

Основным биофизическим механизмом доставки, индуцированной НСЭИ, является образование нанопор, приводящее к увеличению проницаемости барьера [1, 6]. НСЭИ вызывают быструю переориентацию диполей воды и перегруппировку липидов, формируя временные нанопоры (0,7-0,9 нм) в плазматической и внутриклеточных мембранах [1, 6, 9, 11]. При этом домены, богатые холестерином (кавеолы), и белки типа кавеолина-1 модулируют чувствительность клеток к НСЭИ [11]. Нанопоры сохраняются от миллисекунд до минут, пропуская небольшие ионы и молекулы, причем их размер и количество увеличиваются с ростом числа и продолжительности импульсов [9, 12]. Более короткие импульсы (<300 нс) преимущественно проникают внутрь клетки и воздействуют на органеллы, способствуя внутриклеточному транспорту [13, 14]. Кроме того, НСЭИ разрушают электроотрицательные микродомены поверхности клетки, снижая

отрицательный поверхностный заряд и увеличивая проницаемость для катионных препаратов, таких как цисплатин и доксорубицин [2, 17, 18].

НСЭИ существенно стимулируют внутриклеточную доставку как низкомолекулярных лекарств, так и агентов генной терапии (плазмидной ДНК, siRNA и компонентов CRISPR) [3, 4, 17]. Сочетание НСЭИ с ионами кальция или золотыми наностержнями дополнительно улучшает результаты лечения резистентных опухолей [19]. Однако метод имеет ограничения по размеру: поры крупнее 1,9 нм редко встречаются при воздействии НСЭИ, что затрудняет доставку очень больших молекул без наноносителей [20]. Использование липосом и наночастиц позволяет доставлять комплексы крупнее 200 нм [21-23]. В этом случае НСЭИ, одновременно воздействуя на носители и клеточные мембраны, обеспечивает синхронизированное высвобождение и поглощение препаратов, контролируемое длительностью импульса, амплитудой и проводимостью среды [3, 8, 24].

Физические параметры импульсов оказывают дифференцированное влияние на клетки. Более длинные импульсы (например, 900 нс) увеличивают проницаемость плазматической мембраны и цитотоксичность, тогда как более короткие импульсы (<300 нс) способствуют внутриклеточной сигнализации [5, 25, 26]. Высокие значения напряженности поля увеличивают размер и количество нанопор, но могут снизить жизнеспособность чувствительных клеток [14]. Высокочастотные последовательности однополярных импульсов улучшают доставку, в то время как биполярные импульсы могут вызывать эффект отмены [24]. Постимпульсные характеристики поля модулируют потенциал митохондриальной мембраны и апоптоз, а форма волны определяет динамику повторного закрытия (реселинга) мембраны [2].

Технологии на основе НСЭИ продемонстрировали преимущества перед традиционной электропорацией в онкологии, генной терапии и наномедицине благодаря избирательности, безопасности и возможности прямого таргетирования внутриклеточных структур [1, 4, 25]. Перспективным направлением является оптимизация протоколов применения НСЭИ на основе машинного обучения

и систем обратной связи в реальном времени. Однако механизмы взаимодействия импульсных электрических полей с липидным бислоем в присутствии наноразмерных структур сложной физико-химической природы остаются малоизученными. Включение магнитных наноматериалов в биомедицинские протоколы открывает новые пути для направленного транспорта терапевтических агентов. Их присутствие на границе раздела фаз может существенно модифицировать локальное электрическое поле и изменять термодинамическую стабильность мембран при воздействии сверхкоротких импульсов высокого напряжения.

Целью настоящей работы являлось исследование влияния магнитных нанообъектов – магнитных наночастиц (МНЧ) и магнитных нанокомпозитов – на устойчивость к электрическому пробою модельных плоских бислойных липидных мембран (БЛМ) под действием наносекундных электрических импульсов.

1. Материалы и методы

Формирование модельных бислойных липидных мембран (БЛМ).

Плоские бислойные липидные мембраны формировали по классическому методу Мюллера-Рудина [27] из раствора азолектина (Sigma, Сент-Луис, США) в декане в концентрации 30 мг/мл. Липидный бислой получали на круглом отверстии площадью 0,5 мм² в стенке тефлоновой камеры, разделяющей два отсека. Каждый из отсеков заполняли окружающим электролитным раствором, содержащим 0,1 М KCl с добавлением 10 мМ Трис-HCl буфера с фиксированным значением pH 7,0. Все электрофизические измерения проводили в изотермических условиях при комнатной температуре 21 ± 1 °C.

Характеристика и контролируемый транспорт магнитных наночастиц магнетита.

К сформированным мембранам с одной (*цис*) стороны мембраны (рис. 1) дискретно добавляли водную суспензию коллоидных магнитных наночастиц (МНЧ) магнетита (Fe_3O_4). Средний размер синтезированных ядер наночастиц,

по данным просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), составлял 4 ± 1 нм. Электрофоретическую подвижность МНЧ контролировали методом динамического рассеяния света с использованием лазерного анализатора 90 Plus (Brookhaven Instruments Corporation, США); в рабочих условиях (pH 7,0, Трис-буфер) она соответствовала положительному значению электростатического поверхностного ζ-потенциала +25 ± 2 мВ. Для направленного осаждения и локального концентрирования наночастиц на поверхности БЛМ применяли внешний цилиндрический постоянный магнит диаметром 1,0 см. Ось мембраны совпадала с геометрической осью магнита. Параметры стационарного неоднородного магнитного поля непосредственно в области бислоя измеряли портативным гауссметром PCE-MFM 3000 (PCE Instruments, Мешеде, Германия / филиал Манчестер, Великобритания). Магнитная индукция на БЛМ составляла 13 ± 1 мТл при расчетном градиенте индукции 1,3 ± 0,3 Тл/м.

Использование альгинатных магнитных нанокомпозитов.

В отдельной серии экспериментов использовали коллоидные частицы нанокомпозита на основе анионного природного полисахарида (альгината натрия), содержащие МНЧ маггемита (γ-Fe_2O_3) в количестве 26 % от общей сухой массы. Внутреннее распределение диаметров ядер маггемита лежало в диапазоне от 3 до 20 нм с выраженным доминированием фракции около 10 нм. Нанокомпозитные структуры обладали ферромагнитными свойствами; в зависимости от плотности инкорпорированного железа удельная намагниченность насыщения варьировала в интервале от 10 до 20 эме/г. Гидродинамический размер агрегатов нанокомпозита в растворе находился в пределах от 160 до 290 нм, а их рабочая концентрация составляла 4 мг/мл. Для избирательного ферментативного гидролиза полисахаридной матрицы непосредственно в измерительную ячейку вводили фермент альгинат-лиазу в конечной концентрации 1 мкг/мл. Магнитное осаждение полимерных композитов осуществляли при помощи мощного неодимового магнита из сплава NdFeB, выполненного в форме прямоугольного параллелепипеда с габаритными размерами 25×25×10 мм. Данная конфигурация обеспечивала локальное

магнитное поле на мембране величиной 90 ± 2 мТл и высокий пространственный градиент магнитной индукции 7 ± 1 Тл/м.

Электрофизические измерения и регистрация трансмембранных токов.

Для измерения трансмембранной проводимости бислойных липидных мембран при воздействии на них ультракоротких электрических импульсов использовался автоматизированный измерительный стенд. Источником прямоугольных наносекундных и микросекундных импульсов служил генератор электрических сигналов Г5-72 (или прецизионный цифровой двухканальный генератор Rigol DG5352, Rigol Technologies, КНР). Регистрацию электрических параметров мембраны осуществляли с помощью специализированного усилителя тока VA-10X (npi electronic GmbH, Тамм, Германия) в режиме фиксации потенциала (voltage-clamp). Номинальное сопротивление в цепи обратной связи головного каскада усилителя составляло R_{OC} = 5 ГОм, постоянная времени – 20 мс.

Методика работы экспериментальной установки (рис. 1) заключалась в непрерывном измерении слабого (амплитудой менее 1 нА) постоянного или медленно меняющегося в миллисекундном и секундном диапазонах тока через азолектиновую мембрану (БЛМ). Подача потенциала на БЛМ и снятие отклика производились с помощью пары хлорсеребряных электродов сравнения марки Ag-AgCl STREF1 (Ohaus Corporation, Парсиппани, Нью-Джерси, США), погруженных в измерительные отсеки тефлоновой ячейки. Электроды подключались к выносному усилителю тока, преобразующему регистрируемый ионный ток в аналоговое напряжение. Выходной сигнал транслировался для визуального контроля формы волны на цифровой осциллограф, а также оцифровывался с помощью 16-разрядного аналогово-цифрового преобразователя (АЦП) производства L-Card (Москва, Россия) с постоянной частотой дискретизации 1 кГц для последующего компьютерного анализа флуктуаций проводимости бислоя.

Описание принципиальной схемы установки и ее модернизации.

Измерительный комплекс (рис. 1) функционировал в режиме фиксации потенциала. Головной каскад выносного усилителя тока был реализован на базе прецизионного операционного усилителя с высоким входным сопротивлением. Выходное аналоговое напряжение U системы было прямо пропорционально ионному току I, протекающему через бислой, и определялось величиной сопротивления резистора в цепи обратной связи R_{OC} согласно соотношению $U = IR_{OC}$. Для первичного тестирования стабильности БЛМ на ячейку через электроды подавали внешнее пилообразное напряжение амплитудой несколько десятков миливольт и периодом 2,0 с, формируемое внешним генератором. В данном режиме собственная электрическая емкость мембраны (составляющая порядка 1 нФ) в сочетании с высокоомным резистором обратной связи усилителя (5 ГОм) образовывали интегрирующую цепь. В результате на выходе измерительного блока регистрировали сигнал в форме меандра. Амплитуда прямоугольных волн полученного отклика была пропорциональна емкости бислоя, а любые отклонения формы сигнала от идеального меандра свидетельствовали о возникновении активной (ионной) проводимости липидного матрикса. Мониторинг этих параметров позволял прецизионно оценивать качество и исходное состояние каждой сформированной БЛМ, а также контролировать динамику изменения ее структурно-механических характеристик в ходе последующих воздействий.

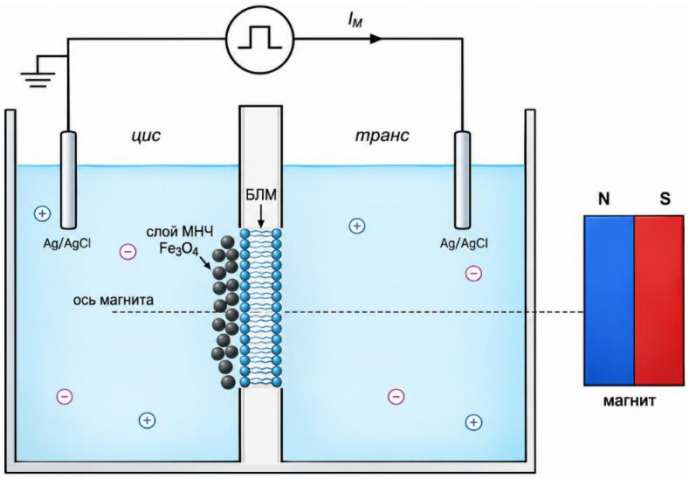


Рис. 1. Схема экспериментальной установки. I_M – измеряемый мембранный ток.

Для обеспечения возможности корректной работы электрофизического тракта со сверхкороткими наносекундными сигналами высокого напряжения схема измерительного стенда была модернизирована (рис. 2). В цепь между БЛМ (моделируемой эквивалентной емкостью C_2 на рис. 2) и инвертирующим входом усилителя тока был ввведен защитный резистивный элемент. Во избежание перегрузки входных каскадов и нарушения стабильности работы операционного усилителя при протекании быстрых токов смещения, защитный узел был разделен на два последовательных резистора (R_2 и R_3). В среднюю точку данного делителя включили шунтирующий конденсатор C_3, сформировав тем самым низкочастотный RC-фильтр. Данный фильтр эффективно подавлял высокочастотные наводки от наносекундных импульсов, но беспрепятственно пропускал слабый постоянный или медленно меняющийся ионный ток мембраны в регистрирующий тракт. Чтобы исключить шунтирующее влияние собственного входного сопротивления цифрового осциллографа (даже при стандартном значении 10 МОм его подключение нарушает балансировку измерительного моста усилителя), вход осциллографа при инструментальном контроле амплитуды и формы импульсов на БЛМ строго переводили в режим закрытого входа (переменный ток, AC coupling).

Влияние реактивных компонентов и оптимизация режимов генерации.

Подключение импульсного генератора к измерительной ячейке осуществлялось через разделительный конденсатор C_1 (рис. 2), что позволило полностью исключить шунтирующее влияние низкого выходного сопротивления прибора на входные каскады усилителя тока. В ходе оптимизации параметров измерительного тракта были установлены жесткие взаимные ограничения между длительностью прикладываемых электрических стимулов и реактивными характеристиками используемых емкостных элементов. При переходе к работе в микросекундном диапазоне емкость разделительного конденсатора C_1 увеличивали до нескольких нанофарад. Такое изменение оказывает существенное влияние на корректность регистрации отклика БЛМ на тестовый пилообразный сигнал, поскольку эквивалентная емкость на инвертирующем входе

операционного усилителя становится суммарной. При исследовании воздействия ультракоротких наносекундных импульсов емкость C_1 приходилось увеличивать до нескольких десятков нанофарад. В этих условиях динамическое тестирование мембраны с помощью пилообразного напряжения становилось невозможным из-за критического искажения формы меандра. Вследствие этого контроль целостности и тока утечки БЛМ осуществляли исключительно в режиме постоянного тока (DC mode) в сочетании с непрерывным визуальным мониторингом состояния липидного бислоя в оптический микроскоп. Дополнительно в ходе предварительных тестов было обнаружено, что архитектура выходных каскадов цифрового генератора Rigol DG5352 приводила к возникновению резких переходных процессов и бросков напряжения в моменты включения/выключения прибора или перестройки частоты. Для исключения спонтанного электрического разрушения липидных мембран от высокоамплитудных перепадов потенциала в финальных сериях экспериментов было принято решение отказаться от использования данного цифрового генератора в пользу аналогового импульсного прибора Г5-72, обладающего более плавной переходной характеристикой.

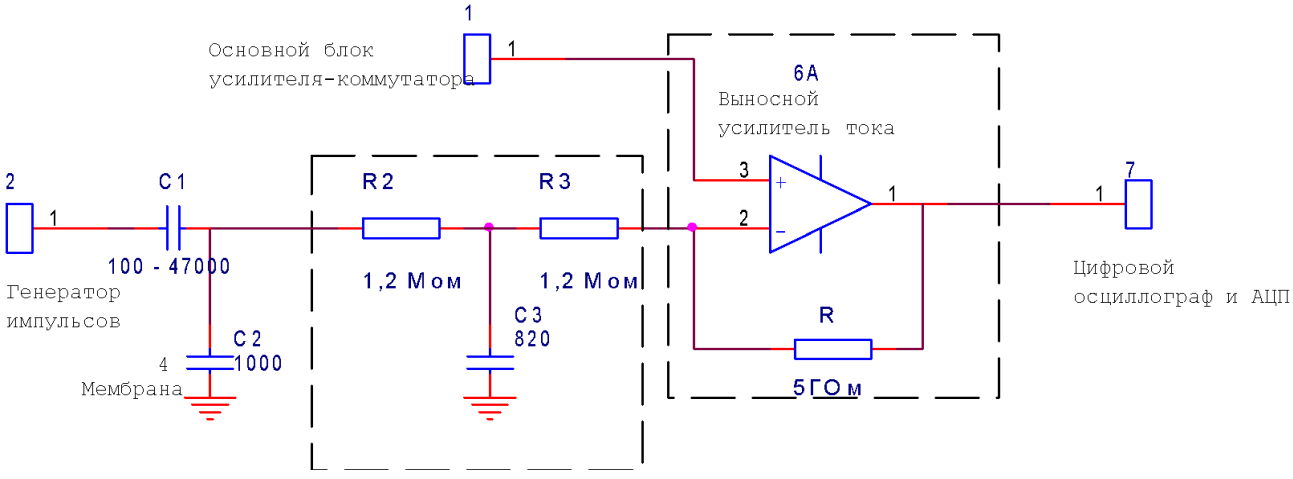


Рис. 2. Доработанная часть схемы экспериментальной установки.

2. Результаты

Влияние магнитных наночастиц магнетита на устойчивость БЛМ к наносекундному и микросекундному пробою.

Электрические стимулы отрицательной полярности транслировались на модельную бислойную липидную мембрану от импульсного генератора по коаксиальному кабелю с волновым сопротивлением 50 Ом через параллельный входной разъем операционного усилителя. В ходе серий экспериментов на липидный бислой подавали одиночные прямоугольные электрические импульсы амплитудой от 1 до 50 В с варьируемой длительностью *t* от единиц миллисекунд до 10 нс при частоте следования порядка 1 Гц.

Для контрольных азолектиновых мембран, контактирующих с водными фазами электролита без добавления нанообъектов, критическая зависимость амплитуды пробивающего импульса *A*, приводящего к необратимому разрыву БЛМ, от его длительности *t* носила выраженный нелинейный характер. Данная квазиравновесная кинетика электропорации с достаточной точностью аппроксимировалась эмпирической гиперболической функцией вида:

$$A\left[B\right]=\frac{7}{t\left[мкс\right]^{0,7}}. \quad (1)$$

Электрическая прочность липидных мембран, находящихся в неоднородном магнитном поле, после введения гидрофильных наночастиц магнетита (Fe_3O_4) со стороны *цис*-отсека измерительной ячейки демонстрировала аномальный рост по сравнению с контрольной группой (рис. 3). Характерный частотный профиль пороговой амплитуды импульсов *A*, при которой липидный бислой еще сохраняет свою целостность и не претерпевает электрического пробоя, трансформировался в квазилинейную зависимость и описывался линейным уравнением:

$$A\left[B\right]=-0,024t\left[мкс\right]+30. \quad (2)$$

Так, при фиксированной длительности электрического стимула t = 1 мкс контрольная БЛМ необратимо разрушалась при средних значениях амплитуды порогового потенциала ~7 В, в то время как мембрана, модифицированная адсорбированным монослоем МНЧ магнетита, стабильно выдерживала напряжение до ~30 В. При увеличении длительности воздействующих импульсов до t = 25 мкс, когда контрольные образцы теряли стабильность уже при критическом потенциале 1,0 В, модифицированный магнетитом липидный бислой успешно функционировал вплоть до ~29,5 В.

Таким образом, направленный транспорт гидрофильных наночастиц магнетита к межфазной границе и их локальное концентрирование в примембранных слоях под действием градиентной магнитной силы вызывают существенную перестройку энергетического профиля порообразования. Это приводит к значительному (до четырехкратного в микросекундном диапазоне) повышению пороговых параметров электрического пробоя БЛМ, стабилизируя структуру мембраны в условиях высокоинтенсивных наносекундных полей.

Оценка влияния фермент-содержащих полисахаридных нанокомплексов на стабильность БЛМ.

В отдельной серии экспериментов были проведены электрофизические измерения трансмембранной проводимости азолектиновых БЛМ, находящихся в более интенсивном неоднородном магнитном поле с индукцией 90 мТл, при дискретном добавлении в измерительную ячейку нанокомплексов на основе альгината и маггемита (Alg-Fe), содержащих в своей структуре фермент альгинат-лиазу. В этих условиях на мембранный бислой подавали высоковольтные электрические стимулы амплитудой от 1 до 8 В, варьируя их длительность в микросекундном диапазоне от 0,5 до 12 мкс с фиксированной частотой следования 0,5 Гц. В этом случае электропорация мембраны,

приводящая к ее разрыву, с достаточной точностью аппроксимировалась эмпирической гиперболической функцией, близкой к контрольной кривой:

$$A[B] = \frac{5}{t[мкс]^{0,8}}. \quad (3)$$

Полученные массивы данных об электрической устойчивости БЛМ при ультракоротком импульсном воздействии были сопоставлены с результатами, полученными для интактного контроля (чистый липидный бислой) и для мембран, модифицированных гидрофильными наночастицами магнетита в градиентном магнитном поле. В ходе сравнительного анализа было установлено, что добавление фермент-содержащих полимерных нанокомплексов Alg-Fe не вызывает статистически значимого изменения пороговых параметров пробоя БЛМ во всем исследованном диапазоне длительностей электрических импульсов. Электрическая прочность липидного бислоя в присутствии таких макромолекулярных агрегатов оставалась на уровне контрольных значений (рис. 3).

Отсутствие выраженного стабилизирующего или дестабилизирующего эффекта со стороны нанокомплексов Alg-Fe, вероятно, связано со спецификой их пространственной организации. В отличие от мелких одиночных гидрофильных наночастиц магнетита (4 ± 1 нм), способных формировать плотный однородный адсорбционный монослой на поверхности БЛМ и экранировать локальное электрическое поле, альгинатные нанокомпозиты обладают значительно большими гидродинамическими размерами (160-290 нм). Даже в условиях локального ферментативного расщепления полисахаридной матрицы альгинат-лиазой стерические затруднения и высокая гетерогенность образующихся агрегатов препятствуют формированию регулярной структуры на границе раздела фаз «липид-вода». В результате крупные полимерные комплексы не оказывают модифицирующего влияния на термодинамический барьер и кинетику образования сквозных гидрофильных нанопор в азолектиновом бислое при воздействии ультракоротких высокоинтенсивных импульсов.

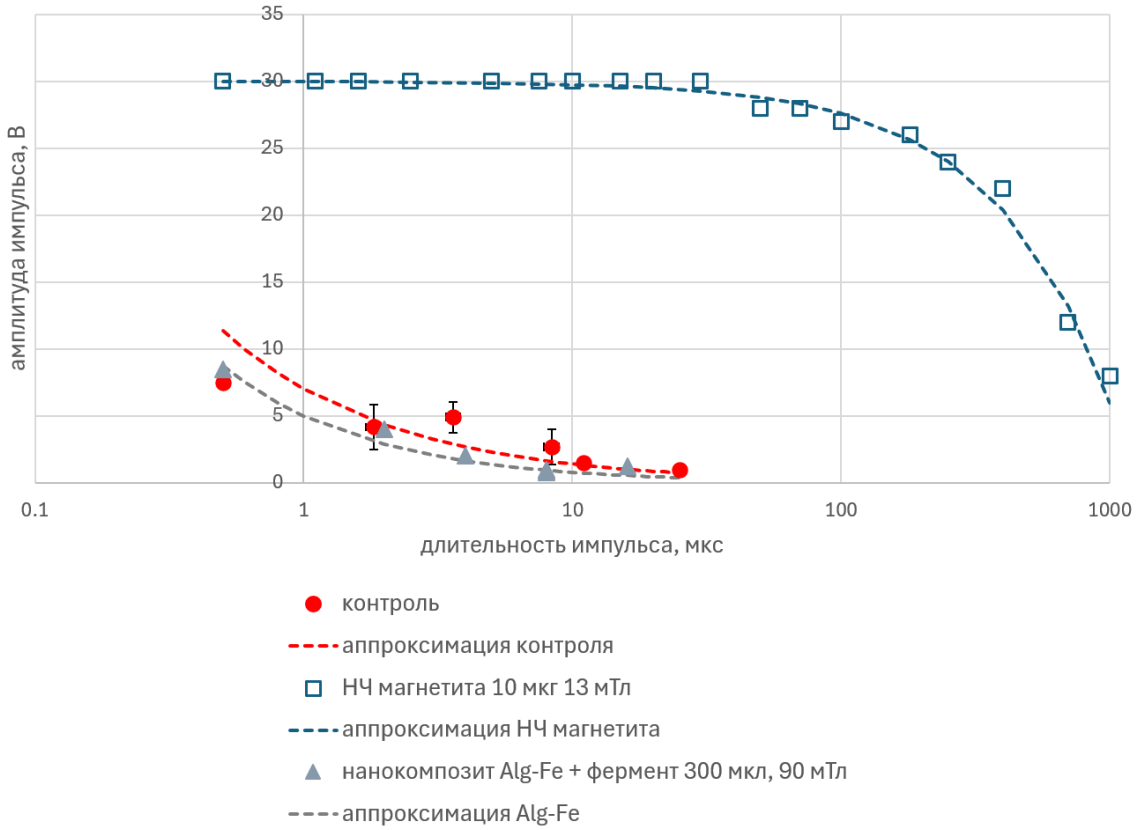


Рис. 3. Зависимость пороговой амплитуды пробоя бислойных липидных мембран от длительности воздействующего электрического импульса в различных экспериментальных условиях. Кружки – контрольные мембраны, квадратики – мембраны в магнитном поле 13 мТл после добавления наночастиц магнетита, треугольники – мембраны в магнитном поле 90 мТл при добавлении нанокомплекса Alg-Fe, содержащего фермент. Маркеры с заливкой указывают на разрыв мембраны, маркеры без заливки – на сохранившую целостность мембрану.

3. Обсуждение

Биофизический механизм увеличения пробойного напряжения БЛМ в присутствии магнитных наночастиц.

Для детального понимания обнаруженного эффекта существенного роста пробойного напряжения планарной бислойной липидной мембраны (БЛМ) под действием ультракоротких электрических импульсов (НСЭИ) в присутствии магнитных наночастиц (МНЧ) рассмотрим эквивалентную электрическую схему и аналитическую модель исследуемой системы.

На рис. 4 представлена эквивалентная схема воздействия НСЭИ на БЛМ, модифицированную наночастицами. Здесь R_M и C_M – активное

сопротивление и электрическая емкость планарной БЛМ, связанной с МНЧ; R_B и C_B – сопротивление и емкость околомембранного водного слоя электролита; $U_0(t)$ – напряжение подаваемого НСЭИ.

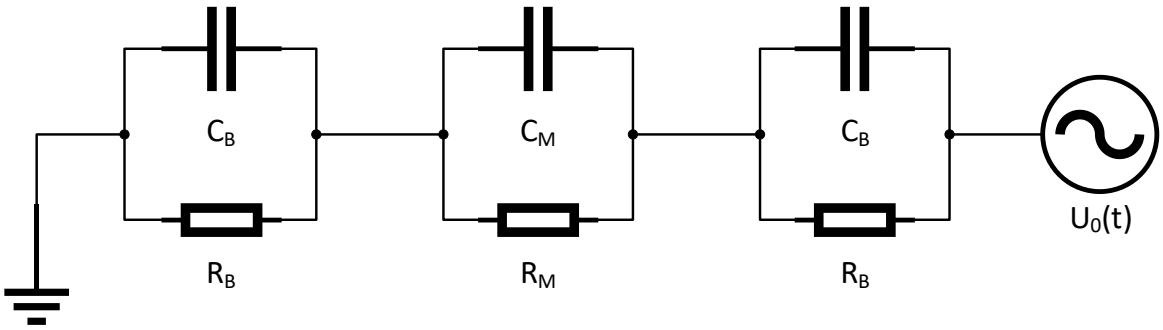


Рис. 4. Эквивалентная схема воздействия ультракоротких электрических импульсов на БЛМ.

На основании законов Кирхгофа для данной цепи падение напряжения на самой мембране $U_M(t)$ выражается через операторную форму записи:

$$U_M = R_M C_M \left(1 + R_M C_M \frac{d}{dt}\right)^{-1} \frac{d}{dt} I(t) \tag{4}$$

Полная система уравнений, связывающая приложенное напряжение $U_0(t)$ и полный ток в цепи $I(t)$, имеет вид:

$$\begin{aligned} &\left(1 + R_M C_M \frac{d}{dt}\right)\left(1 + R_B C_B \frac{d}{dt}\right) U_0(t) = \\ &= \left[R_M \left(1 + R_B C_B \frac{d}{dt}\right) + 2R_B \left(1 + R_M C_M \frac{d}{dt}\right)\right] I(t). \end{aligned} \tag{5}$$

Принимая во внимание, что для исследуемой системы выполняется соотношение $\frac{R_M C_M}{\tau_0} \gg 1$ (где τ_0 – характерная длительность НСЭИ), операторное выражение для напряжения на мембране упрощается:

$$U_M(t) \cong \left[\left(C_M \frac{d}{dt}\right)^{-1} + 2\left(1 + R_B C_B \frac{d}{dt}\right)^{-1}\right]^{-1} U_0(t). \tag{6}$$

Отсюда следует, что непосредственно во время действия наносекундного импульса длительностью τ_0 истинное напряжение, приложенное к системе БЛМ-МНЧ, составляет:

$$U_M(t) \cong \frac{1}{1+2\frac{R_B C_M}{\tau_0}\frac{1}{1+\frac{R_B C_M}{\tau_0}}} U_0(t), \qquad (7)$$

Подстановка экспериментальных и расчетных физических констант ($R_B \cong 2,7510^{-11} СГС$, $C_M \cong 800 СГС$ и $\tau_0 = 10^{-8} c$) в уравнение (7) показывает, что амплитуда потенциала непосредственно на мембранном бислое оказывается значительно меньше амплитуды импульса генератора: $U_M(t) \cong 0,23 U_0$. Таким образом, за счет высокой реактивной составляющей околомембранных слоев водного электролита происходит первичное падение действующего напряжения.

Для раскрытия роли непосредственно самих магнитных наночастиц в сдвиге порога пробоя БЛМ рассмотрим пространственную модель распределения зарядов на границах раздела фаз (Рис. 5).

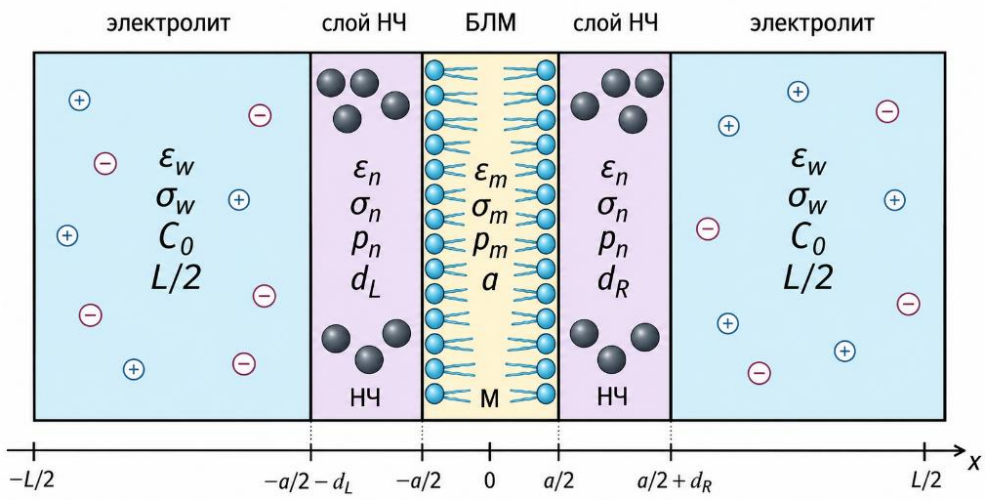


Рис. 5. Схема рассматриваемой системы.

Под действием градиентных сил со стороны внешнего неоднородного магнитного поля, величина которых оценивается как $F^{(H)} = \mu_{MNP} |\nabla B| \cong 2,210^{-15}$ *Дин* при пространственном градиенте индукции $|\nabla B| \cong 370$ Гс/см, положительно заряженные коллоидные наночастицы магнетита с собственным магнитным

моментом $\mu_{MNP} \cong 1,710^{-17}$ эрг/Гс дрейфуют к БЛМ. На обращенной к источнику МНЧ стороне бислоя формируется плотный адсорбционный слой толщиной d_R, характеризующийся диэлектрической проницаемостью ε_n, удельной проводимостью σ_n и плотностью поверхностного электрического заряда ρ_n.

Прошедшие сквозь бислой частицы накапливаются на противоположной стороне БЛМ, образуя второй плоский слой толщиной d_L с аналогичными электрофизическими параметрами (ε_n, σ_n, ρ_n). Сама мембрана толщиной a = 4 нм обладает диэлектрической проницаемостью ε_m и проводимостью σ_m. Вся структура находится в проводящей водной среде (ε_W, $\sigma_w \gg \sigma_m$) с эквивалентной концентрацией C_0 одновалентных ионов электролита. К границам этой системы приложено электрическое напряжение $U_0(t)$.

С учетом геометрической конфигурации слоистой структуры (рис. 6) и реактивного делителя (4) доли падения напряжения НСЭИ, приходящиеся на липидный бислой ($\Delta U_M(t)$) и на адсорбированные слои наночастиц ($\Delta U_H(t)$), выражаются соотношениями:

$$\Delta U_M(t) = \frac{\varepsilon_n a}{\varepsilon_n a + \varepsilon_m (d_L + d_R)} \frac{1}{1 + 2\dfrac{R_B C_M}{\tau_0} \dfrac{1}{1 + \dfrac{R_B C_M}{\tau_0}}} U_0(t), \tag{8}$$

$$\Delta U_H(t) = \frac{\varepsilon_m (d_L + d_R)}{\varepsilon_n a + \varepsilon_m (d_L + d_R)} \frac{1}{1 + 2\dfrac{R_B C_M}{\tau_0} \dfrac{1}{1 + \dfrac{R_B C_M}{\tau_0}}} U_0(t). \tag{9}$$

Следовательно, в присутствии МНЧ истинная доля напряжения, действующая непосредственно на липидный матрикс мембраны, описывается неравенством:

$$\Delta U_M = \left(1 - \frac{\varepsilon_m (d_L + d_R)}{\varepsilon_n a + \varepsilon_m (d_L + d_R)}\right) \frac{1}{1 + 2\dfrac{R_B C_M}{\tau_0} \dfrac{1}{1 + \dfrac{R_B C_M}{\tau_0}}} U_0(t). \tag{10}$$

Действительная часть относительной диэлектрической проницаемости ε_n наноразмерного слоя частиц Fe_3O_4 (размером около 4 нм) на частоте 0,1 ГГц при комнатной температуре варьирует в диапазоне 3,5-6,5 [28-32], что существенно ниже проницаемости монолитного магнетита (15-25). Уравнение (10) доказывает, что за счет формирования двух обкладок из наночастиц часть напряженности внешнего импульсного поля эффективно экранируется. Напряжение на самом липидном бислое оказывается существенно ниже полного приложенного потенциала $U_0(t)$, что макроскопически воспринимается в эксперименте как резкое повышение измеряемого порогового напряжения пробоя планарной БЛМ.

Например, для снижения действующего на БЛМ напряжения в 6 раз (рис. 3), т.е. $\Delta U_M/U_0 = 6$, согласно полученной модели, суммарная толщина сформированных нанослоев МНЧ должна составлять:

$$d_L + d_R \cong 34 нм, \tag{11}$$

(при толщине гидрофобного ядра БЛМ $a = 4$ нм, диэлектрической проницаемости липида $\varepsilon_m = 2{,}5$ и наночастиц $\varepsilon_n = 5$).

Поскольку суммарная толщина адсорбционных слоев МНЧ ($d_L + d_R$) является динамической переменной, напрямую зависящей от объемной концентрации вводимого коллоида, градиента внешнего магнитного поля и времени седиментации/накопления частиц, величина регистрируемого сдвига пробойного потенциала мембраны также флуктуирует в зависимости от данных физических факторов. Напротив, в случае крупных альгинатных нанокомплексов (160-290 нм) стерические затруднения препятствуют их упорядоченному трансмембранному переносу и формированию эквивалентных плоскопараллельных обкладок на липидном интерфейсе, что объясняет отсутствие регистрируемого стабилизирующего эффекта для второй тест-системы.

Заключение

На основе проведенных электрофизических исследований влияния магнитных нанообъектов различной пространственной и физико-химической организации на стабильность модельных липидных бислоев в высокоинтенсивных наносекундных и микросекундных электрических полях сформулированы следующие выводы:

1) Модификация поверхности плоских азолектиновых бислойных липидных мембран (БЛМ) гидрофильными наночастицами магнетита (Fe_3O_4) со средним размером ядер 4 ± 1 нм и положительным ζ-потенциалом в условиях направленного осаждения неоднородным магнитным полем (13 мТл) приводит к аномальному росту их электрической прочности. Экспериментальный профиль пороговой амплитуды пробоя мембран трансформируется из гиперболической зависимости в линейную, а критические значения напряжения необратимого разрушения бислоя возрастают до шести раз во всем исследованном диапазоне длительностей импульсов (от 10 нс до единиц миллисекунд). Это свидетельствует о выраженном стабилизирующем эффекте плотного адсорбционного монослоя мелких магнитных наночастиц (МНЧ) на границе раздела фаз «липид-вода».

2) В отличие от индивидуальных наночастиц, введение в примембранную область крупных полисахаридных нанокомпозитов на основе альгината натрия и МНЧ маггемита (γ-Fe_2O_3) с гидродинамическим диаметром 160-290 нм в условиях воздействия более интенсивного магнитного поля (90 мТл) не вызывает статистически значимого изменения электрической устойчивости БЛМ к ультракоротким электрическим импульсам.

3) Показано, что локальный ферментативный гидролиз полимерной матрицы нанокомпозитов, индуцированный добавлением альгинат-лиазы (1 мкг/мл), также не оказывает модифицирующего влияния на вольт-секундные характеристики пробоя азолектинового бислоя. Отсутствие значимых различий в трансмембранной проводимости БЛМ при добавлении фермент-содержащего нанокомплекса и без него обусловлено стерическими затруднениями и высокой структурной

гетерогенностью макромолекулярных агрегатов, препятствующими формированию регулярной экранирующей структуры на поверхности мембраны.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 23-12-00125-П, https://rscf.ru/project/23-12-00125-П/

Литература

1. Baldwin W.H., Gregory B.W., Osgood C.J. et al. Membrane Permeability and Cell Survival After Nanosecond Pulsed-Electric-Field Exposure–Significance of Exposure-Media Composition // IEEE Transactions on Plasma Science. – 2010. – Vol. 38, no. 10. – P. 2948-2953. – https://doi.org/10.1109/TPS.2010.2058129
2. White J.A., Pliquett U., Blackmore P.F. et al. Plasma membrane charging of Jurkat cells by nanosecond pulsed electric fields // Eur Biophys J. – 2011. – Vol. 40. – P. 947–957. – https://doi.org/10.1007/s00249-011-0710-7
3. Ma R., Wang Y., Wang Z. et al. Enhanced Cellular Doxorubicin Uptake via Delayed Exposure Following Nanosecond Pulsed Electric Field Treatment: An In Vitro Study // Pharmaceutics. – 2024. – Vol. 16, no. 7. – P. 851. – https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16070851
4. Salomone F., Breton M., Leray I. et al. High-yield nontoxic gene transfer through conjugation of the CM18-Tat11 chimeric peptide with nanosecond electric pulses // Molecular Pharmaceutics. – 2014. – Vol. 11, no. 7. – P. 2466-2474. – https://doi.org/10.1021/mp500223t
5. Liu Z., Zou Y., Sun Y. et al. Effects of Nanosecond Pulsed Electric Fields in Cell Vitality, Apoptosis, and Proliferation of TPC-1 Cells // Analytical Cellular Pathology. – 2021. – Vol. 2021. – https://doi.org/10.1155/2021/9913716
6. Ruiz-Fernández A.R., Campos L., Gutierrez-Maldonado S.E. et al. Nanosecond Pulsed Electric Field (nsPEF): Opening the Biotechnological Pandora's Box // Int.J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 6158. – https://doi.org/10.3390/ijms23116158

7. Caramazza L., Paffi A., Liberti M., Apollonio F. Modeling Liposome Electroporation by nsPEF: Towards Realism // 2023 IEEE MTT-S International Microwave Biomedical Conference (IMBioC). – 2023. – P. 136-138. – https://doi.org/10.1109/IMBioC56839.2023.10305103
8. Caramazza L., Paffi A., Liberti M., Apollonio F. A Coplanar Waveguide System for Drug Delivery Mediated by Nanoelectroporation: an Experimental and Numerical Study // 2020 50th European Microwave Conference (EuMC). – 2021. – P. 999-1002. – https://doi.org/10.23199/EuMC48046.2021.9338023
9. Franklin S., Ibey B.L., Nash K., Beier H.T. Measurement of changes in plasma membrane phospholipid polarization following nanosecond pulsed electric field exposure // Proc. SPIE 8585, Terahertz and Ultrashort Electromagnetic Pulses for Biomedical Applications. – 2013. – P. 85850S. – https://doi.org/10.1117/12.2005091
10. Ruiz-Fernández A.R., Campos L., Villanelo F. et al. Exploring the conformational changes induced by nanosecond pulsed electric fields on the voltage sensing domain of a Ca2+ channel // Membranes. – 2021. – Vol. 11, no. 6. – P. 385. – https://doi.org/10.3390/membranes11060385
11. Ullery J.C., Beier H.T., Ibey B.L. Sensitivity of Cells to Nanosecond Pulsed Electric Fields is Dependent on Membrane Lipid Microdomains // 1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies. IFMBE Proceedings. – 2016. – Vol. 53. – P. 215-218. – https://doi.org/10.1007/978-981-287-817-5_53
12. Sözer E.B., Wu Y.H., Romeo S. et al. Nanometer-Scale Permeabilization and Osmotic Swelling Induced by 5-ns Pulsed Electric Fields // J Membrane Biol. – 2017. – Vol. 250. – P. 21–30. – https://doi.org/10.1007/s00232-016-9918-x
13. Yao C., Mo D., Sun C. et al. Research progress of nanosecond pulsed electric field applied to intracellular electromanipulation // Journal of Biomedical Engineering (Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi). – 2008. – Vol. 25, no. 5. – P. 1206–1209. – https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19035297/

14. Lu W., Wu K., Hu X. et al. Theoretical analysis of transmembrane potential of cells exposed to nanosecond pulsed electric field // International Journal of Radiation Biology. – 2017. – Vol. 93, no. 2. – P. 231-239. – https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1230244
15. White J.A., Blackmore P.F., Schoenbach K.H., Beebe S.J. Stimulation of Capacitative Calcium Entry in HL-60 Cells by Nanosecond Pulsed Electric Fields // Journal of Biological Chemistry. – 2004. – Vol. 279, no. 22. – P. 22964-22972. – https://doi.org/10.1074/jbc.M311135200
16. Morotomi-Yano K., Oyadomari S., Akiyama H., Yano K.-I. Nanosecond pulsed electric fields act as a novel cellular stress that induces translational suppression accompanied by eIF2α phosphorylation and 4E-BP1 dephosphorylation // Experimental Cell Research. – 2012. – Vol. 318, no. 14. – P. 1733-1744. – https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2012.04.016
17. Yin S., Chen X., Xie H. et al. Nanosecond pulsed electric field (nsPEF) enhance cytotoxicity of cisplatin to hepatocellular cells by microdomain disruption on plasma membrane // Experimental Cell Research. – 2016. – Vol. 346, no. 2. – P. 233-240. – https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.06.018
18. Vernier P.T., Sun Y., Marcu L. et al. Nanoelectropulse-Induced Phosphatidylserine Translocation // Biophysical Journal. – 2004. – Vol. 86, no. 6. – P. 4040-4048. – https://doi.org/10.1529/biophysj.103.037945
19. Mi Y., Liu Q., Li P. et al. Targeted gold nanorods combined with low-intensity nsPEFs enhance antimelanoma efficacy in vitro // Nanotechnology. – 2020. – Vol. 31, no. 35. – P. 355102. – https://doi.org/10.1088/1361-6528/ab925f
20. Chabot S., Rosazza C., Golzio M. et al. Nucleic Acids Electro-transfer: From Bench to Bedside // Current Drug Metabolism. – 2013. – Vol. 14, no. 3. – P. 300–308. – https://doi.org/10.2174/1389200211314030005
21. San Juan A.M. T., Rodgers T., Bedolla C. et al. Layer by layer surface engineering of poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles for plasmid DNA delivery // Journal of Applied Polymer Science. – 2020. – Vol. 137, no. 32. – https://doi.org/10.1002/app.49377

22. Kulbacka J., Pucek A., Wilk K.A. et al. The Effect of Millisecond Pulsed Electric Fields (msPEF) on Intracellular Drug Transport with Negatively Charged Large Nanocarriers Made of Solid Lipid Nanoparticles (SLN): In Vitro Study // J Membrane Biol. – 2016. – Vol. 249. – P. 645–661. – https://doi.org/10.1007/s00232-016-9906-1
23. Pacios-Michelena S., García-García J.D., Ramos-González R. et al. Nanocarrier-based formulations: Concepts and applications // Bio-Based Nanoemulsions for Agri-Food Applications. – Elsevier, 2022. – P. 413-439. – https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89846-1.00028-0
24. Retelj L., Pucihar G., Miklavčič D. Electroporation of Intracellular Liposomes Using Nanosecond Electric Pulses–A Theoretical Study // IEEE Transactions on Biomedical Engineering. – 2013. – Vol. 60, no. 9. – P. 2624-2635. – https://doi.org/10.1109/TBME.2013.2262177
25. Beebe S.J., Blackmore P.F., White J. et al. Nanosecond pulsed electric fields modulate cell function through intracellular signal transduction mechanisms // Physiological Measurement. – 2004. – Vol. 25, no. 4. – P. 1077. – https://doi.org/10.1088/0967-3334/25/4/023
26. Ibey B.L., Pakhomov A.G., Gregory B.W. et al. Selective cytotoxicity of intense nanosecond-duration electric pulses in mammalian cells // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects. – 2010. – Vol. 1800, no. 11. – P. 1210-1219. – https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.07.008
27. Mueller P., Rudin D.O., Tien H.T., Wescott W.C. Reconstitution of cell membrane structure in vitro and its transformation into an excitable system // Nature. – 1962. – Vol. 194, no. 4832. – P. 979–980. – https://doi.org/10.1038/194979a0
28. Size dependent microwave properties of ferrite nanoparticles: Application to microwave devices / B.K. Kuanr, V. Veerakumar, K. Lingam [et al.] // Journal of Applied Physics. – 2009. – Vol. 105, iss. 7. – Art. 07B522. – Текст: электронный. – https://doi.org/10.1063/1.3073836

29. Electrical conduction mechanism and dielectric properties of spherical shaped Fe3O4 nanoparticles synthesized by co-precipitation method / A. Radoń, D. Łukowiec, M. Kremzer [et al.] // Materials. – 2018. – Vol. 11, iss. 5. – Art. 735. – Текст: электронный. – https://doi.org/10.3390/ma11050735
30. Influence of magnetite nanoparticles on the dielectric properties of metal oxide/polymer nanocomposites based on polypropylene / A.A. Maharramov, M.A. Ramazanov, L. Di Palma [et al.] // Russian Physics Journal. – 2018. – Vol. 60, iss. 9. – P. 1572–1576. – Текст: электронный. – https://doi.org/10.1007/s11182-018-1253-5
31. Synthesis, characterization, and dielectric studies of magnetic iron oxide nanoparticles / A. Sharma, G. Sahu, S.P. Mahapatra // Ferroelectrics. – 2024. – Vol. 618, iss. 1. – P. 367–380. – Текст: электронный. – https://doi.org/10.1080/00150193.2023.2271311
32. Influence of magnetite nanoparticles shape and spontaneous oxidation on the electron transport and electric permittivity / A. Radoń, P. Włodarczyk, D. Łukowiec, J. Mikuła // Materials. – 2021. – Vol. 14, iss. 18. – Art. 5389. – Текст: электронный. – https://doi.org/10.3390/ma14185389

Для цитирования:

Черепенин В.А., Хомутов Г.Б., Таранов И.В., Григорян И.В., Борисова Е.Д., Спиридонов В.В. Вдовин В.А., Сапецкий С.А., Аносов А.А. Модификация электрической прочности липидных бислоев магнитными наночастицами при наносекундном импульсном воздействии // Журнал радиоэлектроники. – 2026. – № 10. https://doi.org/10.30898/1684-1719.2026.10.5