



Денисов Роман Андреевич

**НЕТЕПЛОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МОЩНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТ-
НЫХ ИМПУЛЬСОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДЫ**

Специальность: 1.3.4 – Радиофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт радиотехники и электроники им. В.А.Котельникова Российской академии наук»

Научный руководитель: **Черепенин Владимир Алексеевич**
доктор физико-математических наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией математических методов в радиофизике и биомедицине ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН

Официальные оппоненты: **Пирогов Юрий Андреевич**, доктор физико-математических наук, профессор кафедры медицинской физики физического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Белоусов Александр Витальевич, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией радиационной стерилизации и экспериментальных облучений ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет»

Защита диссертации состоится «04» декабря 2026 г. в 11:00 на заседании диссертационного совета 24.1.111.02 в на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова Российской академии наук» (ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН), расположенном по адресу: 125009, Москва, ул. Моховая 11, корп.7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН и на сайте <http://www.cplire.ru/rus/dissertations/Denisov/dissertation.pdf>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.111.02,
доктор физико-математических наук,
профессор РАН

 / Кузьмин Лев Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

Одним из наиболее перспективных направлений исследований в области применения электромагнитного излучения является изучение эффектов, которые такое излучение оказывает на биологические среды. Подобные исследования велись достаточно давно: так, например, в ИРЭ АН СССР велись под руководством академика Н.Д. Девяткова работы по воздействию СВЧ-излучения миллиметрового диапазона на человека [1–3]. Интересные результаты были получены научными группами О.В. Бецкого, В.Я. Кислова [4–6]. Основное внимание в этих работах уделялось воздействию маломощного непрерывного излучения различных частотных диапазонов на специально выбранные области тела человека. В последние годы активно ведутся работы по воздействию высоковольтными (напряжённость электрического поля 10 кВ/см и выше) ультракороткими (длительность 1 мс и ниже) электромагнитными импульсами на среды органического происхождения.

В зарубежной литературе указывается, что такие импульсы вызывают в биологических клетках обратимую или необратимую электропорацию (явление увеличения проницаемости клеточной мембраны при образовании в ней пор под влиянием электрического поля высокой амплитуды), благодаря чему инициируются различные механизмы клеточной гибели. Исследуется возможность применения этого метода в клинической медицине, в частности, для терапии онкологических заболеваний, которые остаются одной из самых распространённых причин заболеваемости и смертности во всём мире: так, в 2022 году зафиксировано около 20 миллионов случаев рака с 9,7 миллионов случаев смертельных исходов [7].

Тем не менее, есть основания полагать, что при обработке биологических клеток мощными ультракороткими видеоимпульсами возможна не только электропорация, но и другие эффекты, связанные прежде всего с нетепловым воздействием. Особенностью является то, что характерное время закрытия пор клеточной мембраны имеет один порядок с длительностью подаваемого наносекундного

импульса (в то время как в случае обратимой электропорации характерное время закрытия пор значительно больше, от единиц миллисекунд [8] и секунд [9] до нескольких минут [10]). В связи с этим данная работа является логическим продолжением вышеуказанных исследований Н.Д. Девяткова.

Цель и задачи диссертационной работы

Общей целью настоящей работы являются экспериментальные исследования нетеплового воздействия мощных электромагнитных импульсов наносекундной длительности на различные среды биологической природы. В отличие от указанной ранее методики электропорации, где важным элементом являются обратимые или необратимые микропробои (повреждения) среды, в представляемой работе принимаются меры к предотвращению микроразрядов, к которым относится, в частности, применение импульсов короткой (наносекундной и менее) длительности. Отметим, что в этом случае воздействие может достигать ядра клетки.

Систематические исследования в более широком плане по применению нетеплового воздействия мощного электромагнитного излучения на различные среды были начаты в ИРЭ по инициативе и при поддержке академика Ю.В. Гуляева.

В диссертации представлены следующие направления работ.

1. Разработка радиофизических схем для рассмотрения воздействия на биологические объекты (микропланшет с клеточным раствором, бедро лабораторной мыши с привитой опухолью).

2. Анализ переходных процессов в полученных радиофизических схемах и численная оценка характерных физических величин.

3. Оценка воздействия наносекундных импульсов на разные биологические тест-системы в экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo*, в частности, противоопухолевого эффекта.

4. Экспериментальное установление связи между эффективностью воздействия наносекундными импульсами и набором физических параметров воздействия с целью определения оптимальных режимов обработки биологических объектов.

Научная новизна диссертационной работы

В настоящее время эффекты электромагнитных импульсов, которые проявляются при воздействии ими на биологические ткани, достаточно хорошо изучены для диапазонов милли- и микросекундной длительности. Как подчёркивается зарубежными исследователями в их работах (например, [11, 12]), существует тенденция на дальнейшее укорочение длительности импульсов. В связи с этим интерес для учёных представляет диапазон более коротких длительностей импульсов, в частности, наносекундных и субнаносекундных. Подчеркнём также, что исследования на эту тему последние 10 лет активно развиваются за рубежом [13], однако сосредоточены в основном на попытках обоснования и объяснения механизмов электропорации без какого-либо указания на нетепловое воздействие.

В России данная тема развита в значительно меньшей степени, чем за рубежом, и большинство работ, опубликованных по рассматриваемой теме, носят медицинский характер. Значительное число отечественных исследований сосредоточено на терапии онкологических заболеваний (как отдельно, так и в совокупности с другими средствами), где используется исключительно необратимая электропорация [14–17]. Стоит также отметить исследования, проведённые в Томском государственном университете, где в экспериментах *in vitro* изучалось сочетанное применение микроволнового радиоимпульсного воздействия с химическим препаратом [18].

Данная работа направлена на получение новых знаний о противоопухолевом эффекте нетеплового воздействия наносекундными электрическими видеоимпульсами на онкологические образования. Отличительной особенностью данной работы является использование радиофизических методов исследования как к процессу постановки экспериментов, так к их анализу. Отметим, что для воздействия применяются видеоимпульсы, у которых отсутствует частота заполнения, однако разработанная методика применима и в других случаях.

Также подчеркнём, что в работе используется тот же диапазон значений напряжённости поля, что и в работах за рубежом [19–23], однако отличается

длительность импульсов (в наших экспериментах меньше на 1-2 порядка) и частота их следования (в наших экспериментах больше на 1-2 порядка), а также используются другие опухолевые модели. Наконец, представлены результаты экспериментов *in vivo* на лабораторных мышах с привитыми опухолями различного генеза, в то время как работы по подобному методу воздействия как в России, так и за рубежом проводились в основном на растворах клеток.

Объект и предмет исследования

Объектом исследования в работе является радиофизическая система воздействия мощных электромагнитных видеоимпульсов наносекундной длительности, подаваемых с высоковольтного генератора на исследуемый образец биологической природы. Что касается основных экспериментальных материалов, ими в работе являлись различные биологические тест-системы, использованные в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

В экспериментах *in vitro* импульсное воздействие оказывалось на пластиковые микропланшеты с клеточным раствором внутри. Микропланшет представляет собой коробку высотой 16,5 мм, внутри которой с шагом 9 мм расположены 96 цилиндрических лунок (высота и диаметр каждой лунки – 10,5 мм и 6,5 мм соответственно). В центре микропланшета выбирается матрица 5×5 лунок, которая заполняется клеточным раствором – эти лунки в установке целиком накрываются верхним электродом. В качестве опухолевой модели в растворе использовались клетки мышинной карциномы легкого Льюис (LLC), культивированные при 37°C в CO₂-инкубаторе в среде RPMI 1640 с добавлением L-глутамина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки.

В экспериментах *in vivo* импульсное воздействие производилось на лабораторных мышей с различными привитыми опухолями в области бёдер. Для воздействия были выбраны мыши-гибриды первого поколения F1 (CBA × C57Bl/6), самки (категории MD) и мыши линии C57Bl/6, самки (категории SPF); возраст мышей составлял 8 – 10 недель. Для помещения в экспериментальную установку мыши фиксировались на специальных сертифицированных подстилах RENOFIX МК 2000 из

оргстекла. В качестве опухолевых моделей использовались саркома мягких тканей мыши S37 и карцинома легкого Льюиса (LLC): взвеси опухолевых тканей были инокулированы мышам под кожу на наружную поверхность бедра в объеме 0,1 мл. Исследования проводили у мышей на 7 – 9 день роста опухолей, размер которых на начало воздействия составлял: $130 \pm 20 \text{ мм}^3$ для саркомы S37 и $120 \pm 20 \text{ мм}^3$ – для карциномы LLC.

Теоретическая и практическая значимость

Представленный в данной работе массив экспериментальных результатов, полученный при проведении опытов на реализованной схеме установки, подтверждает данные о нетепловом воздействии мощными наносекундными импульсами на онкологические образования. Благодаря данным результатам появляется возможность установить конкретные режимы нетеплового воздействия электромагнитных импульсов с оптимальными параметрами, имеющие биологически значимое разрушительное влияние на опухоли и не несущие вреда для здоровой ткани. Эти режимы воздействия могут стать стартовой точкой в дальнейшей отработке метода для получения более эффективных результатов, подразумевающих больший процент разрушения опухолевых клеток в области воздействия. Таким образом, практическая значимость работы заключается в разработке метода радиофизического воздействия на биологические объекты.

Методология и методы исследования

В работе производится теоретический и экспериментальный анализ влияния электромагнитного импульсного нетеплового воздействия на различные биологические объекты.

Для теоретического рассмотрения используется метод эквивалентных схем, так как характерные длины волн много больше объекта воздействия. Для каждого из объектов (микропланшет с биологическим образцом в экспериментах *in vitro*, лабораторная мышь на подложке из оргстекла в экспериментах *in vivo*)

разрабатывается радиофизическая эквивалентная схема. Затем для эквивалентных схем производится численная оценка характерных физических величин и изменения формы импульса на нагрузке.

Для экспериментального рассмотрения используются в основном методы, хорошо известные в биологических и медицинских применениях. В случае клеточных растворов в экспериментах *in vitro* рассматривалась процентная мера торможения роста (ингибирования пролиферации) клеточной культуры. В случае мышей с привитыми опухолями в экспериментах *in vivo* основной характерной величиной был процент торможения роста опухоли (ТРО).

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанный метод нетеплового воздействия мощными электромагнитными импульсами (с амплитудой порядка напряжённости электрического поля на мембране клетки) на биологические среды с опухолевыми клетками оказывает положительный противоопухолевый эффект, зависящий от радиофизических параметров воздействия, таких как амплитуда, частота повторения импульсов и общее количество импульсов.

2. Разработанная экспериментальная установка обеспечивает нетепловые режимы воздействия мощными электромагнитными импульсами *in vitro* и *in vivo*, которые инициируют торможение роста опухолевых клеток.

3. Инициация торможения роста опухолевых клеток наблюдается в заданных границах параметров, которые определяются с помощью разработанного метода нетеплового воздействия мощными электромагнитными импульсами.

Личный вклад автора

Экспериментальная установка, на которой производилось воздействие мощными наносекундными импульсами *in vitro* и *in vivo*, была разработана, собрана и настроена соискателем при содействии научного руководителя, академика РАН Черепенина В.А., а также к.ф.-м.н. Вдовина В.А. и коллектива лаборатории.

Лично соискателем совместно с коллегами по лаборатории проводились все эксперименты по непосредственному воздействию на биологические объекты, предоставленные научными сотрудниками филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (филиал МНИОИ им. П.А. Герцена). Соискатель также принимал участие в анализе и структуризации результатов обработки экспериментальных данных, производившейся сотрудниками НМИЦ, а также интерпретировал полученные результаты в виде графиков. Постановка задачи, обсуждение и интерпретация результатов осуществлялись совместно с научным руководителем.

Численное моделирование радиофизических схем в программе OrCAD PSpice было произведено лично соискателем. Графическая обработка полученных результатов в программе OriginPro также производилась автором.

Поиск и анализ актуальных работ по указанной тематике также выполнялся соискателем. Соискателем также были сформулированы научная новизна, положения и выводы по диссертации.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные идеи и положения диссертационной работы изложены в 5 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН по специальности 1.3.4. Радиофизика. Из них – 1 статья в зарубежных научных изданиях, входящая в систему цитирования Scopus, 2 статьи – в научных журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК по соответствующей специальности, 3 статьи – в научных журналах, входящих в Белый список ВАК (уровень 1), 5 статей – в научных журналах, индексируемых базой данных RSCI:

- 1А. В. А. Вдовин, **Р. А. Денисов**, С. А. Сапецкий, В. А. Черепенин. Технология экспериментов нетеплового воздействия мощных электромагнитных импульсов на естественные и искусственные среды. // Радиотехника и электроника. – 2023. – Т. 68 – № 9. – С. 910–916. DOI: 10.31857/S0033849423090267. **(Уровень 1 Белого списка ВАК, RSCI)**

Переводная версия: V. A. Vdovin, **R. A. Denisov**, S. A. Sapetskii, V. A. Cherepenin. Technology of Experiments of Non-Thermal Effect of Powerful Electromagnetic Pulses on Natural and Artificial Environments //Journal of Communications Technology and Electronics. – 2023. – V. 68. – №. 9. – P. 995-1001. DOI: 10.1134/S1064226923090267. (**Scopus**)

- 2А. В.А. Вдовин, **Р.А. Денисов**, С.А. Сапецкий, В.А. Черепенин. Особенности экспериментов по воздействию интенсивных ультракоротких электрических импульсов на биоподобные среды. // Журнал радиоэлектроники. – 2024. – №. 9. DOI: 10.30898/1684-1719.2024.9.6 (**Перечень ВАК, RSCI, РИНЦ**)
- 3А. В.А. Вдовин, Н.Б. Морозова, А.А. Панкратов, С.А. Сапецкий, **Р.А. Денисов**, Репецкая Л.В., Черепенин В.А. Противоопухолевый эффект *in vivo* при нетепловом воздействии мощных электромагнитных импульсов. // Биофизика / Biophysics. – 2026. – Т. 71. – №1. – С. 173–190. DOI: 10.7868/S3034527826010167. (**Уровень 1 Белого списка ВАК, RSCI**)

Переводная версия: V. A. Vdovin, N. B. Morozova, A. A. Pankratov, S. A. Sapetskii, **R. A. Denisov**, L. V. Repetskaya, and V. A. Cherepenin. In vivo Antitumor Effect of Non-Thermal Exposure to High-Power Electromagnetic Pulses //Biofizika. – 2026. – V. 71. – No. 1. – P. 173–190. DOI: 10.1134/S0006350926700168.

- 4А. 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. DOI: 10.30898/1684-1719.2026.3.8 (**Перечень ВАК, RSCI, РИНЦ**)
- 5А. В.А. Черепенин, В.А. Вдовин, Н.Б. Морозова, А.Д. Плютинская, С.А. Сапецкий, **Р.А. Денисов**. Нетепловое воздействие мощных электромагнитных импульсов на онкологические объекты *in vitro* и *in vivo*. // Доклады Российской академии наук. Физика, технические науки. – 2026. – Т.528. – С. 50–57. DOI: 10.7868/S3034508126030065 (**Уровень 1 Белого списка ВАК, RSCI**).

Помимо этого, результаты научной работы обсуждались на научных семинарах ИРЭ им. В.А.Котельникова РАН, а также на международных и российских конференциях и семинарах. По итогам конференций были опубликованы сборники научных трудов (1 с индексацией в Scopus, 3 с индексацией в РИНЦ):

- 6А. **R. A. Denisov**, V. A. Vdovin, S. A. Sapetskiy and V. A. Cherepenin, Transient Processes Analysis in Experiments on Nanosecond Electric Pulses Exposure on Similar to Biological Media //2024 IEEE 9th All-Russian Microwave Conference (RMC). – IEEE, 2024. – С. 252-255. (**Scopus**)
- 7А. **Р.А. Денисов**, В.А. Вдовин, С.А.Сапецкий. Особенности воздействия интенсивными ультракороткими электрическими импульсами на различные варианты нагрузок с биоподобными средами. // Сборник научных статей по материалам VII Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития радиотехнических и инфокоммуникационных систем» («Радиоинфоком-2023»), г. Москва, РТУ МИРЭА: сборник научных статей. – М.: МИРЭА – Российский технологический университет, 2023. – с. 193-198. (**РИНЦ**)
- 8А. **Р.А. Денисов**, В.А. Вдовин, С.А. Сапецкий. Применение метода эквивалентных схем для анализа воздействия наносекундными импульсами на биологические среды. // Сборник трудов XXXV Всероссийской школы-семинара «Волновые явления: физика и применения» имени профессора А.П. Сухорукова – 2024 г. – с. 163-165. (**РИНЦ**)
- 9А. **Р. А. Денисов**, В.А. Вдовин, А.А. Панкратов, А.Д. Плютинская. Оценка выживаемости опухолевых клеток культуры LLC при воздействии наносекундными электрическими импульсами // Сборник трудов XXXVI Всероссийской школы-семинара «Волновые явления: физика и применения» имени профессора А.П. Сухорукова. – 2025. – С. 306-308. (**РИНЦ**)

Общий список конференций и научных семинаров, где были представлены результаты работы, дан далее: XXXIV Всероссийская школа-семинар «Волновые

явления: физика и применения» («Волны-2023») имени А.П. Сухорукова (Красновидово, Россия, 28 мая – 2 июня 2023 года); VII Международная научно-практическая конференция («Радиоинфоком-2023») «Актуальные проблемы и перспективы развития радиотехнических и инфокоммуникационных систем», (Москва, Россия, 20 – 24 ноября 2023 года); 20-й конкурс работ молодых ученых, специалистов, аспирантов и студентов имени Ивана В. Анисимкина ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН (Москва, Россия, 8 – 9 апреля 2024 г.); XXXV Всероссийская школа-семинар «Волновые явления: физика и применения» («Волны-2024») имени профессора А.П. Сухорукова (Красновидово, Россия, 26 – 31 мая 2024 года); 9 Всероссийская Микроволновая Конференция (9th All-Russian Microwave Conference) (Международная конференция) (Москва, Россия, 25 – 29 ноября 2024 г.); XXXVI Всероссийская школа-семинар «Волновые явления: физика и применения» («Волны-2025») имени профессора А.П. Сухорукова, (Красновидово, Россия, 1– 6 июня 2025 года); XXXVII Всероссийская школа-семинар «Волновые явления: физика и применения» («Волны-2026») имени профессора А.П. Сухорукова, (Красновидово, Россия, 31 мая – 5 июня 2026).

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из списка сокращений и условных обозначений, введения, трёх глав, заключения, а также списка использованной литературы и раздела благодарностей. Работа содержит 133 страницы, 39 рисунков и 11 таблиц. Список цитированной литературы содержит 139 наименований.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обосновывается актуальность избранной темы диссертационного исследования, оценивается степень ее разработанности, определяются цели и задачи диссертационного исследования, осуществляется выбор предмета и объекта исследования, раскрывается научная новизна, определяются методологические основания исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, формулируются положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации посвящена обзору научных работ по тематике воздействия мощными электромагнитными импульсами на различные биологические среды.

В разделе 1.1 описываются физические эффекты, возникающие при воздействии электромагнитными импульсами. В подразделе 1.1.1 вводится понятие электропорации (создания пор в клеточной мембране под действием электрического поля), описывается строение биологической клетки и представлена её эквивалентная схема. Вводятся характерные формулы теории электропорации для расчёта увеличения напряжения в клеточной мембране при воздействии коротким электромагнитным импульсом, а также для критических значений амплитуды и объёмной плотности энергии электрического поля, которые необходимы для образования пор в мембране под действием импульсов [24].

В подразделе 1.1.2 рассматриваются основные модели теоретического рассмотрения электропорации: непоровые (основанные на детерминистских описаниях взаимодействия амплитуды и поля) и поровые (включающие стохастическое описание образования пор). В подразделе 1.1.3 описывается применение методов молекулярной динамики для моделирования электропорационных процессов в клеточных мембранах, которые рассматриваются как обычные липидные бислои.

В подразделе 1.1.4 описываются предполагаемые зависимости эффектов импульсного воздействия от его параметров (амплитуды, длительности одного импульса, количества импульсов), выраженные в виде теоретического закона подобия

из работы [25]. В подразделе 1.1.5 описывается возможное влияние на эффективность воздействия таких параметров, как форма и полярность импульсов.

В подразделе 1.1.6 рассматриваются температурные эффекты, проявляющиеся при воздействии наносекундными импульсами, и причины их возникновения.

В подразделе 1.1.7 указаны перспективные пути развития области. Отдельное внимание уделено тенденциям по укорочению длительности импульсов до суб-наносекундного диапазона, чему посвящён подраздел 1.1.8, где описываются внутриклеточные эффекты пикосекундных импульсов.

В разделе 1.2 описаны основные экспериментальные методы и техника для исследования эффектов воздействия ультракоротких импульсов. Раздел разбит на три основных части. В подразделе 1.2.1 рассматриваются типичные генераторы импульсов высокого напряжения и схемы, на которых они работают. В подразделе 1.2.2 рассматриваются инвазивные и неинвазивные способы доставки электромагнитных импульсов на объект (игольчатые, плоскопараллельные и иные электроды, а также широкополосные антенны различных конструкций для пикосекундных импульсов). В подразделе 1.2.3 описываются способы регистрации мощных ультракоротких импульсов с помощью широкополосных осциллографов, рассматриваются резистивные и емкостные делители напряжения, аттенюаторы и датчики V-dot и D-dot.

В разделе 1.3 описаны характерные биологические эффекты, проявляющиеся в клетках при воздействии на них электрическими импульсами. Так, в подразделе 1.3.1 перечисляются основные механизмы клеточной гибели, индуцированной импульсами: апоптоз (регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные тельца, ограниченные плазматической мембраной) и некроз (быстрая, неконтролируемая гибель клеток, которая приводит к потере клеточного гомеостаза и характеризуется разрывом клеточной мембраны) – и указываются различия между ними. В подразделе 1.3.2 описывается ионный транспорт при электропорации, увеличивающийся из-за повышения проницаемости клеточной мембраны. В подразделе 1.3.3 перечислены возможные

медицинские применения метода импульсного воздействия, в частности, лечение рака.

Вторая глава диссертации посвящена описанию технологии эксперимента и теоретическому рассмотрению происходящих при воздействии процессов. В разделе 2.1 дано описание схемы экспериментальной установки для воздействия наносекундными импульсами в экспериментах *in vitro* и *in vivo* (см. рис. 1). Генератор мощных импульсов FID Technology, являющийся основным элементом установки, может генерировать видеоимпульсы с амплитудой до 60 кВ и длительностью 7.5 нс по основанию (типичный вид экспериментального импульса показан на рис. 2) и работать как в режиме одиночной подачи импульсов, так и с заданной частотой следования (~ 100 Гц).

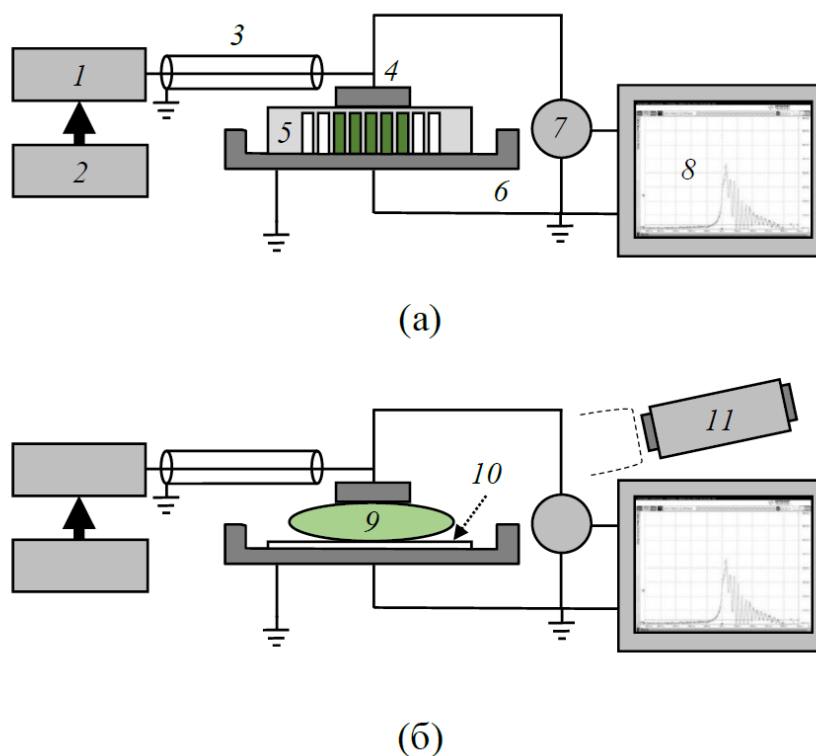


Рис. 1. Схема установки для экспериментов *in vitro* и *in vivo*: 1 – высоковольтный генератор мощных импульсов, 2 – задающий генератор, 3 – коаксиальный кабель, 4 – верхний электрод, 5 – микропланшет с клеточным раствором для экспериментов *in vitro*, 6 – нижний электрод, 7 – ВЧ щуп-делитель напряжения, 8 – цифровой осциллограф, 9 – лабораторная мышь с привитой опухолью в области бедра для экспериментов *in vivo*, 10 – подложка из оргстекла, 11 – термограф.

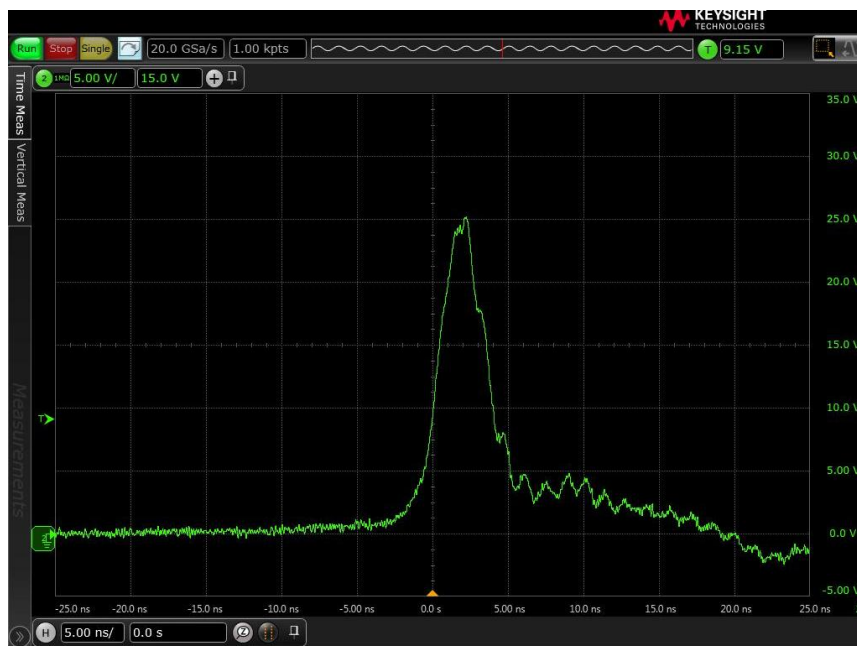


Рис. 2. Осциллограмма наносекундного импульса на нагрузке.

В разделе 2.2 производится подготовка к анализу происходящих в области воздействия переходных процессов с точки зрения радиофизических эквивалентных схем. Для объектов в экспериментах *in vitro* (подраздел 2.2.1, микропланшет с раствором опухолевых клеток) и *in vivo* (подраздел 2.2.2, лабораторная мышь с привитой на бедре опухолью, расположенная на подложке из оргстекла) составляются объёмные схемы области воздействия, по которым далее создаются эквивалентные электрические схемы (см. рис. 3а и 3б, параметры элементов C_i и R_i вычислены из известных формул для сопротивления и емкости).

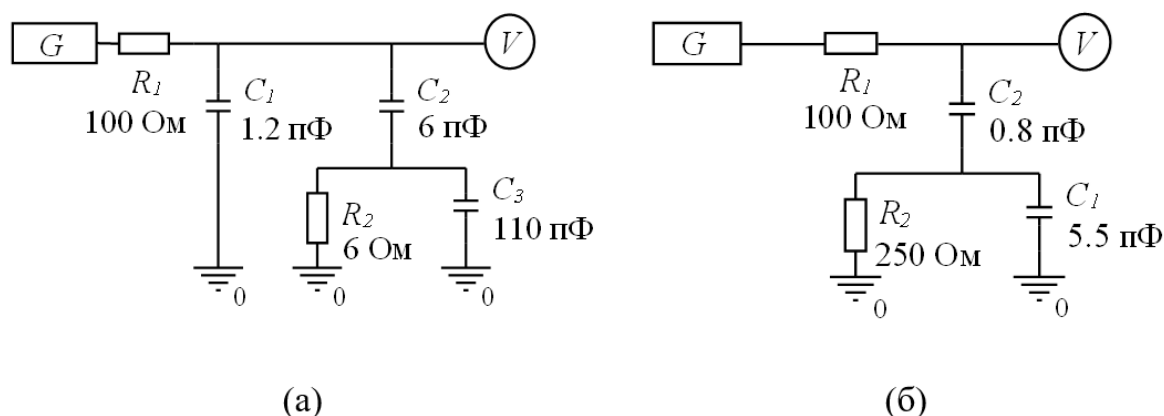


Рис. 3. Примеры эквивалентных электрических схем для области воздействия в экспериментах *in vitro* (а) и *in vivo* (б).

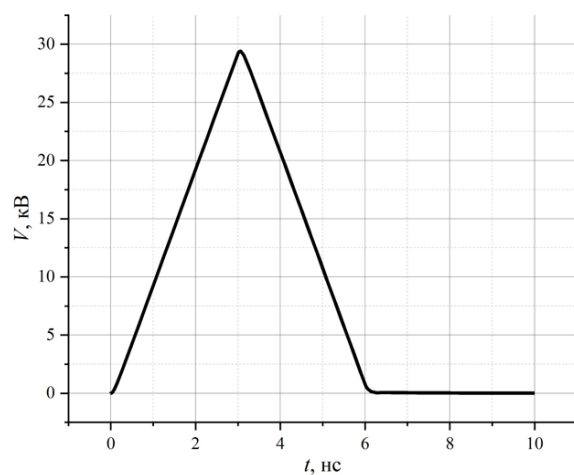
В разделе 2.3 представлены результаты численной оценки переходных процессов в сформированных эквивалентных схемах для экспериментов *in vitro* (подраздел 2.3.1) и *in vivo* (подраздел 2.3.2). Моделирование производилось с применением программы OrCAD PSpice с графическим представлением в OriginPro. Численно оценивались физические величины и составлялись графики зависимостей от времени напряжения на входе схемы и непосредственно на объекте, а также мощности и энергии одного импульса, входного и рассеиваемого на объекте. В качестве примера на рис. 4 представлены графики характерных физических величин воздействия при поступлении импульса на электроды и его изменения непосредственно на объекте-нагрузке (моделирование проводилось для эквивалентной схемы эксперимента *in vivo* с рис. 3б).

Показано, что и для случая *in vitro*, и для случая *in vivo* форма монополярного треугольного импульса на объекте меняется на биполярную, а сам импульс испытывает падение амплитуды на 1-2 порядка (см. рис. 4а и 4б). В подразделе 2.3.3 показано, какое влияние на изменение амплитуды и формы входного импульса на нагрузке оказывает подложка из оргстекла, используемая в эксперименте *in vivo*: согласно результатам моделирования, при отсутствии подложки амплитуда импульса остаётся монополярной и испытывает значительно меньшее падение величины.

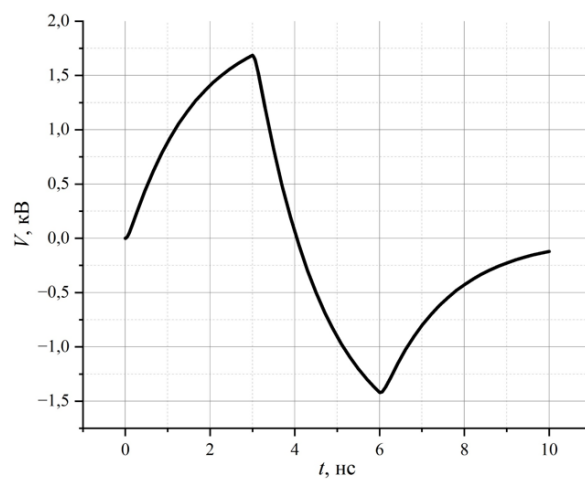
В разделе 2.4 представлены результаты численной оценки физических величин для случая образования пор в клеточной мембране по классическим формулам из теории электропорации [24]. Увеличение напряжения ΔU на клеточной мембране под действием приложенного электромагнитного импульса длительностью t рассчитывается по формуле:

$$|\Delta U(t)| = fE \frac{D}{2} |\cos \theta| (1 - \exp(-t/\tau))$$

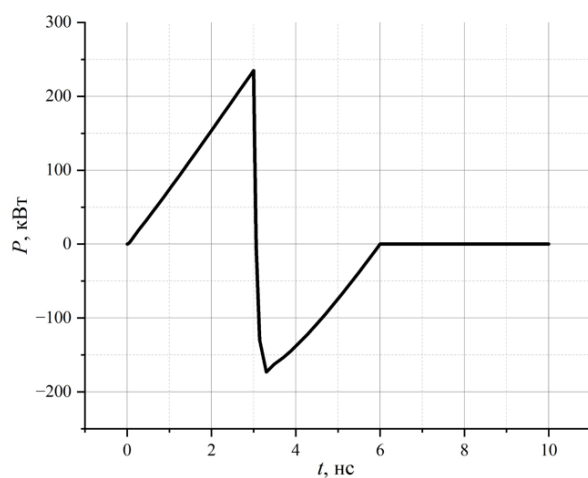
где f – коэффициент формы, E – напряжённость постоянного электрического поля, D – диаметр сферической клетки, θ определяет угловую зависимость $\Delta U(t)$ относительно направления приложенного поля (на полюсах клетки $\cos \theta = 1$), τ – постоянная времени зарядки.



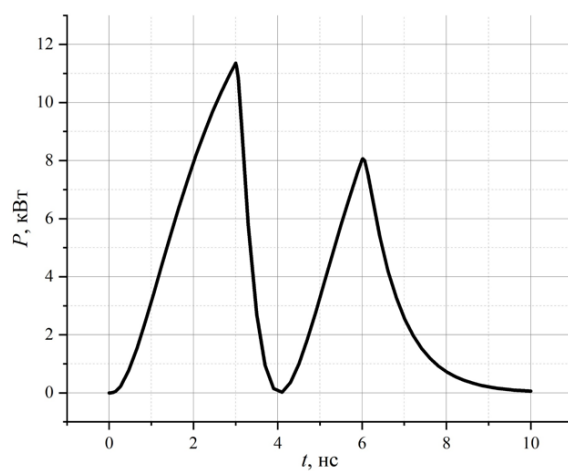
(а)



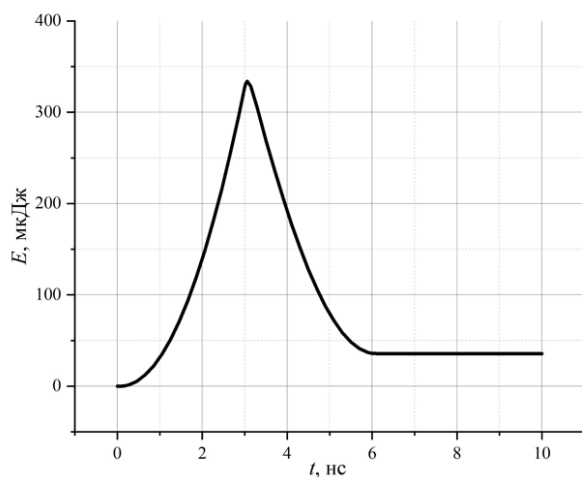
(б)



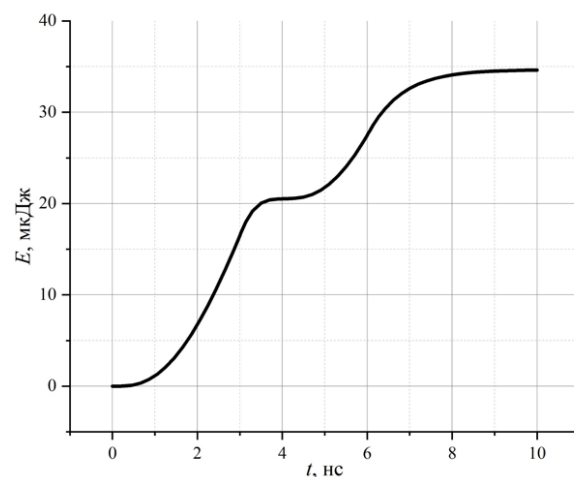
(в)



(г)



(д)



(е)

Рис. 4. Графики зависимостей характерных физических величин для случая эксперимента *in vivo* от времени: напряжений на выходе высоковольтного генератора (а) и на нагрузке (б); мощности, поступающей от генератора (в), и тепловой мощности, рассеиваемой на нагрузке (г); энергии одного импульса, поступающей от генератора (д), и энергии одного импульса, рассеиваемой на нагрузке (е).

Для типичного электрического импульса наносекундной длительности, использовавшегося в наших экспериментах, было рассчитано, что ΔU лежит в диапазоне от 0.02 В до 0.2 В. Согласно данным из других работ, критическое напряжение $U_{кр}$ для образования пор в клеточной мембране примерно равно 1 В; более актуальные работы утверждают, что эта величина для наносекундных импульсов может достигать 1.2–1.5 В [12]. Полученная нами оценка ΔU на порядок меньше этих значений, из чего следует, что данный импульс не создаёт нужное критическое напряжение на мембране для электропорации.

Произведена численная оценка критической напряжённости электрического поля $E_{кр}$ для возникновения электропорации в течение заданной длительности импульса t . Расчёт производился по формуле из работы [24]:

$$E_{кр} = \frac{U_{кр}}{f \frac{D}{2} (1 - \exp(-t/\tau))}$$

Рассчитанное $E_{кр}$ для нашего экспериментального импульса лежит в диапазоне от ~ 7 кВ/см до ~ 90 кВ/см. Полученная величина превышает реальные значения напряжённости на объекте-нагрузке, которые может создавать источник в схеме нашей установки (с учётом того, что импульс на нагрузке испытывает падение амплитуды на 1-2 порядка). Это различие также говорит о том, что типичный импульс на выходе используемого в нашей установке генератора не обязательно может инициировать электропорацию в клеточной мембране.

Далее произведена численная оценка критической энергии электрического поля, необходимой для образования пор в клеточной мембране. Расчёт критической объёмной плотности энергии производился по формуле из работы [24]:

$$W_{кр} = \frac{E_{кр}^2 \tau}{\rho_1}$$

где ρ_1 – удельное сопротивление клеточной среды. Рассчитано, что $W_{кр}$ для импульса нашей экспериментальной установки лежит в диапазоне от $\sim 36,8$ кДж/м³ до ~ 80 МДж/м³, что при умножении на минимальный объём области воздействия в нашем эксперименте даёт примерный диапазон значений критической энергии от

~30 мДж до 62 Дж. Это на несколько порядков выше, чем величины энергии одного импульса на объекте-нагрузке, численно оценённые в данной работе с помощью метода эквивалентных схем для обоих случаев *in vitro* (0,35 мДж) и *in vivo* (34 мкДж). На основе оценок критических напряжённости и энергии делается вывод, что возможные биологические эффекты, которые данные импульсы могут инициировать в клетках, не обязательно вызваны явлением электропорации (обратимой или необратимой).

В разделе 2.5 оценивается нетепловой эффект воздействия наносекундными импульсами на биологические объекты в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Расчёты повышения температуры ΔT при воздействии одним наносекундным импульсом дают численные оценки в $\sim 10^{-7}$ – 10^{-6} °C для случая воздействия на микропланшет с клеточным раствором и 10^{-6} °C для случая воздействия на мышь с привитой опухолью. На основании полученных оценок сделан вывод, что даже при суммарном количестве импульсов $\sim 10^5$ – 10^6 общая величина ΔT должна оставаться в достаточно малых пределах. Оценки также подтверждены экспериментальными данными динамической термометрии, проводившейся во время экспериментов *in vivo*, которое показали отсутствие нежелательного нагрева тел обрабатываемых мышей.

Третья глава диссертации посвящена описанию экспериментов *in vitro* и *in vivo* по воздействию мощными электрическими импульсами на разные биологические тест-системы как отдельно, так и в совокупности со средствами химиотерапии.

В разделе 3.1 описаны проведённые эксперименты *in vitro*, где в качестве материалов использовались растворы (см. рис. 5) клеток мышинной карциномы легкого Льюис (LLC). В подразделе 3.1.1 описываются материалы и методы, использовавшиеся в экспериментах *in vitro*. На клетки проводили электромагнитное воздействие с варьируемыми параметрами (постоянными были напряженность на электродах ~ 24 кВ/см и длительность импульса – 7.5 нс). Уровень ингибирования пролиферации (торможения роста) опухолевых клеток в культуре характеризовался величиной ИП – это процентная мера разности оптических плотностей формазана в МТТ-тесте: оптической плотности раствора формазана в контрольных

лунках и оптической плотности раствора формазана в опытных лунках. Дальнейший статистический анализ осуществлялся с помощью компьютерных программ Microsoft Excel и OriginPro 8.0.

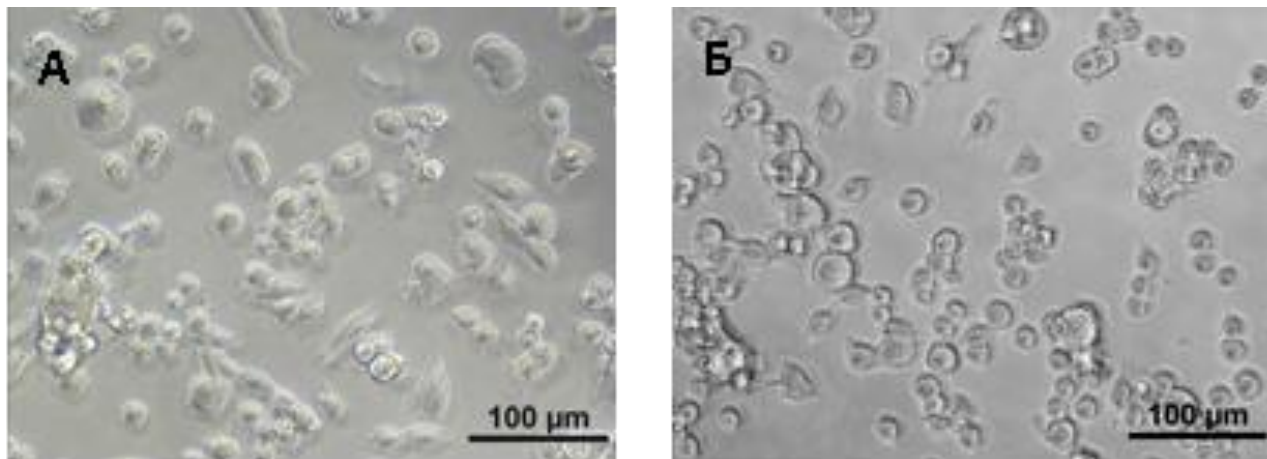


Рис. 5. Микрофотографии опухолевых клеток карциномы легкого Льюис до воздействия (А) и через 30 минут после воздействия (Б). Режим воздействия: напряженность на электродах ~ 24 кВ/см, длительность импульса – 7.5 нс, частота следования импульсов – 50 Гц, суммарное количество импульсов – 50 000.

В подразделе 3.1.2 представлены полученные экспериментальные результаты по воздействию на клетки карциномы легкого Льюиса. Представлены результаты оценки цитотоксической активности нетеплового воздействия относительно опухолевых клеток для разных значений частоты следования импульсов и их суммарного количества. Наибольшее значение ИП опухолевых клеток в 90% дал режим воздействия с частотой следования 200 Гц и количеством импульсов 50 000. Биологическое исследование обработанных клеток свидетельствовало о необратимых повреждениях как внутриклеточных структур, так и цитоплазматической мембраны.

Далее представлены эксперименты по оценке цитотоксической активности комбинированного применения нетеплового воздействия и препарата Цисплатин-Тева *in vitro*. Наибольший (потенцирующий) эффект достигался при использовании нетеплового воздействия в режиме с частотой следования 25 Гц, количество импульсов 25 000, и концентрации препарата 40 мкг/мл (ИП составляло 54%, в то

время как отдельное применение наносекундных импульсов в этом же режиме дало ИП в 18%, а отдельно Цисплатина-Тева – 19%). При этом для случая с применением препарата Цисплатин-Тева в концентрации 80 мкг/мл ИП составило 53%. Таким образом, в случае совместного использования двух методов аналогичный результат получен при вдвое меньшей концентрации химического препарата.

Далее, описываются дополнительные эксперименты по оценке выживаемости опухолевых клеток после нетеплового воздействия. Исследовалась зависимость эффектов от частоты следования импульсов при постоянных параметрах напряжённости электрического поля 24 кВ/см и суммарного количества импульсов 50 000. Для исследованных значений 50, 100 и 200 Гц были получены значения ингибирования пролиферации в 79, 73 и 82%. Эти значения имеют разброс до ~11%, что может быть связано с отличающимися условиями пробоя в каждой из лунок обрабатываемых микропланшетов.

В разделе 3.2 описываются проведённые эксперименты *in vivo* на специально выведенных мышах, которым прививались опухолевые штаммы саркомы мягких тканей S37 и карциномы лёгкого Льюис LLC.

В подразделе 3.2.1 описываются материалы и методы, использовавшиеся в экспериментах *in vivo*. Варьировались следующие параметры воздействия наносекундными импульсами: напряжённость электрического поля, частота следования импульсов, суммарное количество импульсов. Также менялась кратность воздействия: единоразовое воздействие в течение 60 минут (однократный режим) и пять единоразовых воздействий на протяжении пяти дней с интервалом в 24 часа (пятикратный режим). В ходе клинического осмотра после воздействия оценивались внешнее состояние животных и регистрировались размеры опухоли. Выделялось несколько критериев оценки эффективности, самым значимым из которых являлось торможение роста опухоли (ТРО) – процентная мера разности средних объёмов опухоли в контрольной и опытной группах.

В подразделе 3.2.2 описываются эксперименты по наблюдению за ростом объёма привитой опухоли у мышей с саркомой мягких тканей S37 и карциномой лёгкого Льюис LLC для однократного и пятикратного режимов воздействия.

Графики показывают, что наиболее эффективным для саркомы S37 оказался пятикратный режим воздействия (20 кВ/см, 100 Гц в течение 60 минут, суммарное количество импульсов 1 800 000); ТРО в этом режиме достигало 63%. Что касается карциномы LLC, наибольшую эффективность показал однократный режим воздействия наносекундными импульсами в следующем режиме: 20 кВ/см, 300 Гц в течение 60 минут, количество импульсов 1 080 000; ТРО в этом режиме достигало 67%. График зависимости объёма опухоли карциномы лёгкого Льюиса от времени после воздействия при различных режимах обработки представлен на рис. 6.

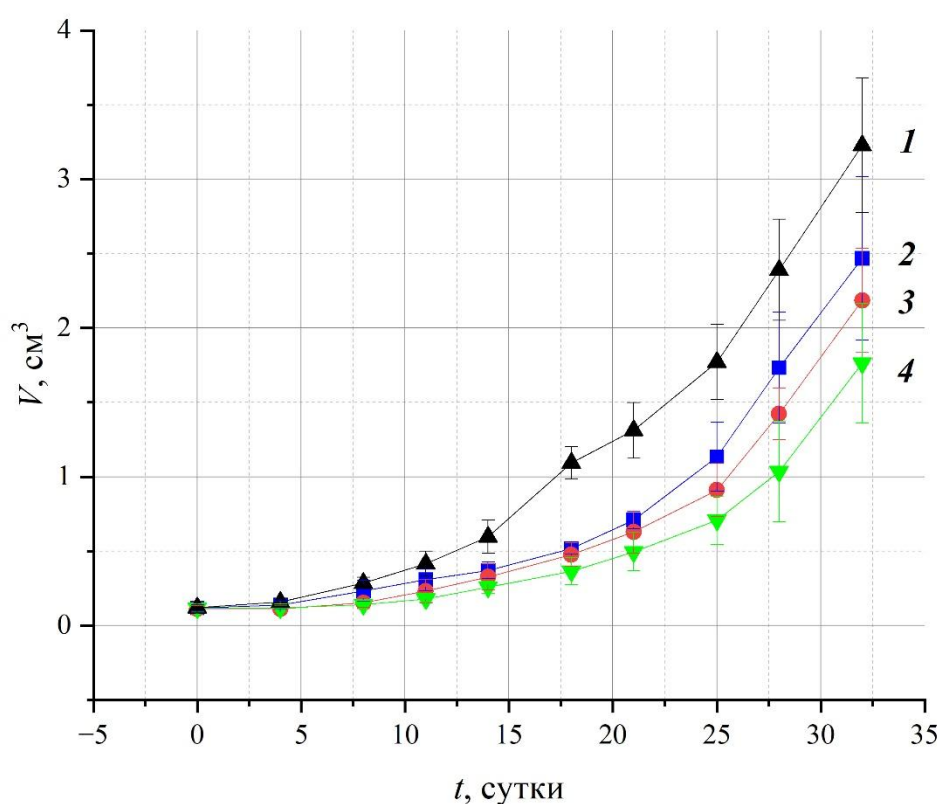


Рис. 6. График зависимости объёма опухоли карциномы легкого Льюиса от времени после воздействия при различных режимах обработки: 1 – контрольная группа, 2 – однократное воздействие, 100 Гц, 3 – пятикратное воздействие, 100 Гц, 4 – однократное воздействие, 300 Гц.

Далее описаны исследования противоопухолевой активности воздействия наносекундными импульсами у мышей с саркомой S37 и карциномой LLC. Путём вариации параметров воздействия были определены наиболее эффективные

режимы. Так, наиболее высокий противоопухолевый эффект для саркомы S37 (ТРО 70–81%) получен при использовании напряженности 20 кВ/см, частоты следования импульсов 200 и 300 Гц в течение 60 минут (количество импульсов 720 000 и 1 080 000, соответственно). Для карциномы LLC наиболее высокий противоопухолевый эффект (ТРО 50–73%) получен при использовании режима 20 кВ/см и 300 Гц в течение 60 минут (1 080 000 импульсов). Данные режимы также были наиболее безопасными для объектов: другие режимы воздействия либо приводили к травмам или параличу у мышей, либо не оказывали значимого биологического эффекта.

Далее описано изучение влияния воздействия наносекундными импульсами на метастатическую активность опухоли. Критерием оценки выступал уровень торможения метастазирования опухоли (ТМ) в лимфоузлах, процентная мера разности двух масс: средней массы метастазов (в пересчете на одну мышь) в контрольной группе и средней массы метастазов (в пересчете на одну мышь) в опытной группе. Эксперименты на мышах с саркомой S37 показали, что нетепловое воздействие наносекундными импульсами тормозит развитие метастазов в лимфатических узлах: значение ТМ составило 31% – при этом торможение роста первичной опухоли к 19-м суткам достигало 66%.

Далее произведена оценка результатов сочетанного воздействия наносекундными импульсами и химиотерапии: через 24 часа после обработки импульсами мышам внутривенно вводился препарат Цисплатин-Тева в разных дозах. Оценивалась эффективность комбинированного воздействия относительно каждого компонента (наносекундные импульсы, средство химиотерапии). Исследования показывают, что использование сочетанных режимов лечения на 79–100% эффективнее относительно воздействия импульсами в режиме (20 кВ/см, 300 Гц, 1 080 000 импульсов) и на 67–100% эффективнее относительно Цисплатина-Тева в дозе 8,0 мг/кг. На рис. 7 представлены результаты оценки эффективности по торможению роста опухоли для разных режимов воздействия во времени после процедуры.

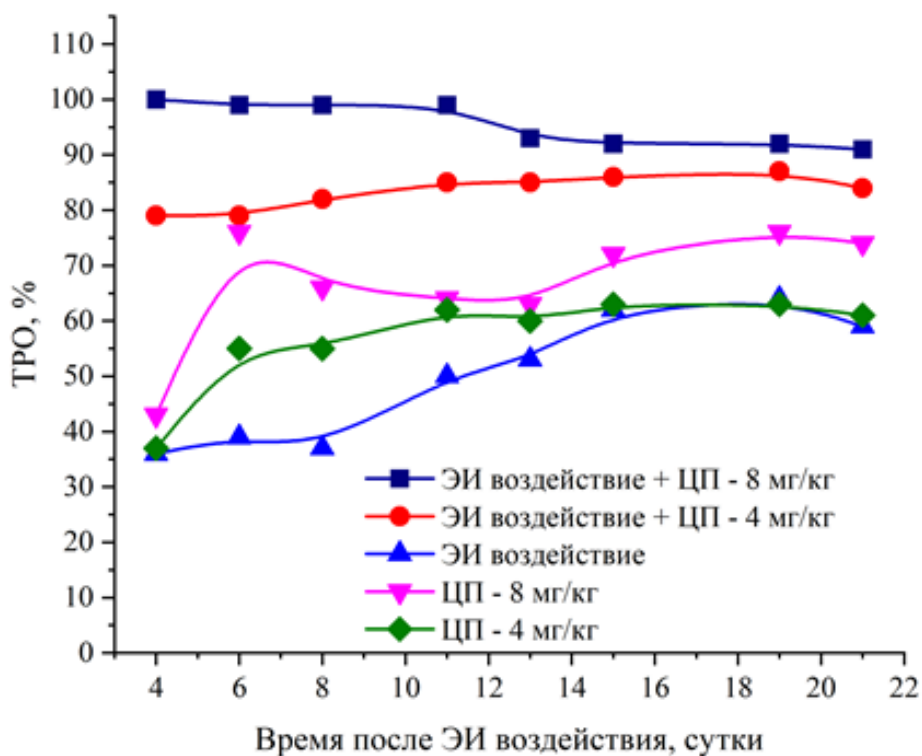


Рис. 7. Сравнение активности по торможению роста опухоли (ТРО) разных режимов действия (отдельного и сочетанного) химиотерапии и нетеплового воздействия импульсами на мышей с саркомой S37. Воздействие наносекундными импульсами проводилось в режиме (20 кВ/см, 300 Гц, 1 080 000 импульсов). ЭИ – электромагнитные импульсы, ЦП – Цисплатин-Тева.

В разделе 3.3 представлено обобщение и обсуждение результатов проведённых экспериментов, включающее их анализ в сравнении с аналогичными результатами, полученными в актуальных зарубежных исследованиях.

В **Заключении** сформулированы основные результаты диссертации.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИИ

- Разработана схема и реализована экспериментальная установка, предназначенная для нетеплового воздействия мощными электрическими импульсами наносекундной длительности на биологические объекты. Представлены конструкции вариантов нагрузок, позволяющие применять нетепловое воздействие для обработки биологических объектов в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

- Составлены радиофизические схемы различных вариантов конструкций эксперимента на указанной установке, с помощью которых оценены характерные физические величины амплитуды, мощности и энергии импульса на биологическом объекте. Отмечено изменение формы треугольного импульса на нагрузке с монополярной на биполярную, а также падение амплитуды на 1-2 порядка.
- Произведены численные оценки изменения трансмембранного потенциала в клетке, а также критических значений напряжённости электрического поля и энергии, необходимых для образования электропорационных каналов в мембране. Проведённые оценки показывают, что мощные наносекундные импульсы реализованной экспериментальной установки не вызывают электропорацию в мембранах клеток при нетепловом воздействии. Однако, учитывая разнообразие электрофизических характеристик живых клеток, это предмет специального исследования, выходящего за рамки настоящей работы.
- Численно оценено двумя способами увеличение температуры на объекте, происходящее при воздействии. На основании численных оценок на основе моделирования радиофизических эквивалентных схем, а также экспериментальных данных динамической термографии сделан вывод, что нагрев объекта при обработке незначителен.
- Продемонстрировано наличие противоопухолевого эффекта нетеплового воздействия в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Определены эффективные режимы воздействия с терапевтическим эффектом. Показано влияние параметров воздействия на общую эффективность процедуры как отдельно нетепловым воздействием импульсами, так и совместно со средством химиотерапии Цисплатин-Тева. При совместном применении Цисплатина-Тева и нетеплового воздействия в определённых режимах выявлен синергетический эффект, повышающий результативность комбинированной обработки в сравнении с отдельным применением двух методов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Девятков Н.Д., Чернов З.С., Бецкий О.В. и др. Нетепловое воздействие СВЧ импульсов наносекундной длительности на трансэпителиальный перенос ионов натрия // Биофизика. – 1982. – Т. 28 – № 3. – С. 558-560.
2. Девятков Н.Д., Плетнев С.Д., Чернов З.С. и др. Воздействие низкоэнергетического импульсного КВЧ- и СВЧ-излучения наносекундной длительности с большой пиковой мощностью на биологические структуры (злокачественные образования) // Докл. РАН. – 1994. – Т. 336. – № 6. – С. 826-828.
3. Девятков Н.Д., Плетнев С.Д., Бецкий О.В. и др. Воздействие низкоэнергетического импульсного СВЧ-излучения наносекундной длительности с большой пиковой мощностью на развитие злокачественных новообразований // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2000. – №10. – С. 29-36.
4. Бецкий О. В., Девятков Н. Д., Кислов В. В. Миллиметровые волны низкой интенсивности в медицине и биологии //Биомедицинская радиоэлектроника. – 1998. – Т. 4. – С. 13-29.
5. Бецкий О. В. Пионерские работы по миллиметровой электромагнитной биологии, выполненные в ИРЭ РАН //Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2003. – Т. 8. – С. 11-20.
6. Девятков Н. Д. и др. Диагностика и коррекция функционального состояния организма человека лечебно-диагностическим комплексом «Шарм». //Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. – 2018. – Т. 10. – №. 2. – С. 257-268.
7. Bray F. et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries //CA: a cancer journal for clinicians. – 2024. – Т. 74. – №. 3. – С. 229-263.
8. Xia Z. et al. Removable Nanopore Sealing and In Situ Iron Oxide Nanoparticle Synthesis on Thin Silicon Nitride Membranes //ACS Nanoscience Au. – 2026.
9. Sherif S., Ghallab Y. H., Ismail Y. Integrated electrical modeling of circulating tumor cells for enhanced dielectrophoretic trapping and electroporation //Scientific Reports. – 2026. – Т. 16. – №. 1. – С. 12072.
10. Bier M. et al. Kinetics of sealing for transient electropores in isolated mammalian skeletal muscle cells //Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association. – 1999. – Т. 20. – №. 3. – С. 194-201.
11. Alshahat M. A. et al. Cancer treatment: An overview of pulsed electric field utilization and generation //Applied Sciences. – 2023. – Т. 13. – №. 18. – С. 10029.
12. Beebe S. J. et al. Ultrashort electric pulse effects in biology and medicine. – New York: Springer, 2021.
13. Varshney A. et al. A Comprehensive Review on the use of nanosecond pulsed electric fields in cancer therapy //Ceramics International. – 2026.
14. Астахов Д. А. и др. Необратимая электропорация при местнораспространенном раке поджелудочной железы //Анналы хирургической гепатологии. – 2018. – Т. 23. – №. 2. – С. 59-68.

- 15.Булдаков М. А. и др. Влияние импульсно-периодического СВЧ-излучения на опухолевые и нормальные клетки. Механизм действия //Сибирский онкологический журнал. – 2007. – №. S2. – С. 26-27.
- 16.Панченков Д. Н. и др. Необратимая электропорация метастазов колоректального рака в печень с использованием системы" nanoknife" //Клиническая практика. – 2013. – №. 1 (13). – С. 37-42.
- 17.Патютко Ю. И. и др. Необратимая электропорация нерезектабельного местно-распространенного рака поджелудочной железы //Современная онкология. – 2017. – Т. 19. – №. 3. – С. 58-63.
- 18.Просекина Е. А. Повышение эффективности доксорубина за счёт электропорации мембран опухолевых клеток импульсно-периодическим микроволновым излучением //Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины. – 2018. – С. 489-491.
- 19.Chen X. et al. Long term survival of mice with hepatocellular carcinoma after pulse power ablation with nanosecond pulsed electric fields //Technology in cancer research & treatment. – 2012. – Т. 11. – №. 1. – С. 83-93.
- 20.Nuccitelli R., McDaniel A. Nano-pulse stimulation therapy in oncology //Bioelectricity. – 2024. – Т. 6. – №. 2. – С. 72-79.
- 21.Nuccitelli R. et al. Optimized nanosecond pulsed electric field therapy can cause murine malignant melanomas to self-destruct with a single treatment //International Journal of Cancer. – 2010. – Т. 127. – №. 7. – С. 1727-1736.
- 22.Guo F. et al. In vivo evidences of nanosecond pulsed electric fields for melanoma malignancy treatment on tumor-bearing BALB/c nude mice //Technology in cancer research & treatment. – 2014. – Т. 13. – №. 4. – С. 337-344.
- 23.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.
- 24.Schoenbach K. H. et al. Ultrashort electrical pulses open a new gateway into biological cells //Proceedings of the IEEE. – 2004. – Т. 92. – №. 7. – С. 1122-1137.
- 25.Schoenbach K. H. From the basic science of biological effects of ultrashort electrical pulses to medical therapies //Bioelectromagnetics. – 2018. – Т. 39. – №. 4. – С. 257-276.

Автореферат

Денисов Роман Андреевич

**НЕТЕПЛОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МОЩНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИМ-
ПУЛЬСОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДЫ**