

ДЕФИБРИЛЛЯЦИЯ СЕРДЦА. Проблемы электропорации биологических мембран комбинированным воздействием

В.В. Мороз, М.С. Богушевич, Е.К. Козлова, А.М. Черныш,

А.С. Шаракшанэ, П.Ю. Алексеева

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН,

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва

Борьба с внезапной сердечной смертью в результате возникновения фибрилляции желудочков сердца остается одной из острых проблем клинической и экспериментальной медицины. При этом необходимо иметь в виду, что процедура электрической дефибрилляции, в силу неотложности проведения реанимационных мероприятий может проводиться при самых различных условиях, наряду с иными физическими воздействиями на пациента: например, при значительной кровопотере, при действии ионизирующих излучений, при химических влияниях на клетки организма. Важной задачей является исследование механизмов воздействия импульсного электрического поля на мембранные клеток и выбор эффективных параметров электрических импульсов для дефибрилляции сердца. В мире используют в основном два типа дефибриллирующих импульсов: экспоненциальный (Edmark) и биполярный синусоидальный (Gurvich). В экспериментах на животных и в клинической практике показано, что вторая форма импульса несколько эффективней при одинаковой энергии электрического разряда. Однако обоснований таких результатов и объяснений их механизмов нет.

Высоковольтный импульс дефибриллятора создает в структурах сердца такую напряженность поля, которая вызывает электропорацию мембран и, как следствие, эффект дефибрилляции сердца. Какова при этом должна быть форма и амплитуда наведенного импульса, каков механизм действия на мембранные однополярного и биполярного импульсов и в чем разница действия таких импульсов на клетку, остается неясным.

Кроме того, представляет самостоятельный интерес эффективность электропорации, вызванной импульсным электрическим полем дефибриллятора, при комбинированном воздействии факторов иной

физической природы, например, при радиоактивном облучении организма, при кровопотере и применении в этих случаях газотранспортных кровезаменителей, при нарушениях структуры мембран химическими препаратами.

В данной работе рассматриваются как действие на мембранные отдельных факторов, так и эффекты, вызванные их совместным воздействием.

Во-первых, большой научный интерес представляет совместное действие импульсного электрического поля и газотранспортных кровезаменителей типа перфторуглеродных соединений на мембранные. Такие воздействия весьма вероятны в практической медицине при значительных кровопотерях и возникающей на этом фоне фибрилляции желудочков сердца. В научной литературе данные такого комбинированного воздействия отсутствуют. В этих случаях может наблюдаться как эффект «укрепления» мембран, и, как следствие, повышение порога дефибрилляции, так и «разрыхление» мембран и снижение порога дефибрилляции.

Во-вторых, это действие на мембранные импульсными электрическими полями экспоненциальной и биполярной квазисинусоидальной формы различной напряжённости. Причём необходимо отметить, что действие монополярных и биполярных импульсов как той, так и другой формы существенно различаются по эффективности процесса образования пор.

В-третьих, это действие дефибриллирующего импульса на мембранные, подвергнувшиеся влиянию поверхностно-активных веществ и эфиров. В этих случаях кинетика образования пор сильно зависит от концентрации химических агентов и может вызывать прямо противоположные эффекты.

В-четвёртых, действие электрического поля дефибриллятора совместно с ионизирующими излучениями. В качестве ионизирующих излучений использовали пучки ускоренных электронов, полученных на ускорителе, а также коротковолновое ультрафиолетовое излучение. Наиболее интересным результатом является выраженная неаддитивность влияния указанных физических факторов на электропорацию мембранных.

Методики экспериментов

В качестве исследуемой системы удобно использовать суспензию эритроцитов человека в физиологическом растворе: 0,05мл крови в 1 мл физиологического раствора, что соответствует концентрации 230 млн. эритроцитов /мл. При этом оптическая плотность суспензии толщиной 5 мм равна 1.

В гипотоническом растворе крови человека через мембрану красных кровяных телец внутрь диффундируют ионы Na^+, Cl^- . Поскольку проницаемость мембранны для ионов Na^+, Cl^- значительно превышает ее проницаемость для гемоглобина, внутриклеточная концентрация белков остаётся постоянной. С диффузией ионов Na^+, Cl^- уменьшается их трансмембранный разница концентраций, и, следовательно, снижается отрицательное осмотическое давление. Обусловленное высоким содержанием в эритроците белков положительное онкотическое давление, оставаясь неизменно высоким, перестает компенсироваться снижающимся осмотическим. Вода через мембрану устремляется внутрь эритроцита, и через некоторое характерное время эритроцит гибнет, оставляя так называемую «тень» – остатки фосфолипидного бислоя в расплывающемся облаке гемоглобина. Гибель эритроцитов в растворе можно зафиксировать по снижению его оптической плотности, так как рассеивание на объекте «тень» пренебрежимо мало по сравнению с рассеиванием на целом эритроците.

Структурно-функциональное состояние мембраны и скорость гемолиза

Скорость диффузии гемоглобина через мембрану близка к нулю, а скорость осмоса молекул воды через мембрану весьма высока. Повышение давления в эритроците носит квазистатический характер: воды в эритроците в любой момент столько, что процессы осмотического транспорта молекул воды внутрь и транспорта молекул наружу из-за градиента давления равны и скомпенсированы. Исходя из этого, можно считать, что время снижения численности эритроцитов определяется только механической прочностью мембранны и скоростью диффузии внутрь

клетки ионов Na^+, Cl^- , которое, в свою очередь, зависит от проницаемости мембраны. Характерные времена гемолиза в описанных экспериментах настолько малы (минуты) по сравнению с характерными временами гемолиза в не подвергнувшихся воздействию повреждающих факторов контрольных суспензиях (несколько суток), что можно не учитывать диффузию ионов натрия через полупроницаемую мембрану эритроцита, а рассматривать только диффузию через образовавшиеся в мембране поры.

Таким образом, скорость снижения оптической плотности зависит только от количества и величины структурных дефектов – пор, образовавшихся в мембране при воздействии импульсным электрическим полем.

Плотность эритроцитов в суспензии определяется методом фотоколориметрии: измеряется оптическая плотность раствора и затем вычисляется их концентрация. Измерение оптической плотности суспензии необходимо проводить на длине волны 750нм. Именно на данной длине волны ослабление интенсивности исходного пучка света определяется рассеянием света на эритроцитах. При малых концентрациях эритроцитов оптическая плотность суспензии (D) прямо пропорциональна их концентрации (n): $D=kn$. Поэтому, измеряя оптическую плотность суспензии в данный момент времени $D(t)$, можно получать информацию о концентрации эритроцитов $n(t)$. При внешнем воздействии эритроциты гемолизируются, что приводит к уменьшению оптической плотности суспензии. График зависимости $D(t)$ будем называть кинетической кривой.

Сигмоидальный характер всех получаемых кривых согласуется с предположением о том, что эритроциты в суспензии, подвергшейся воздействию импульсного электрического поля, составляют популяцию, и время жизни каждого из них после воздействия составляет некоторое случайно предопределенное время с гауссовым распределением.

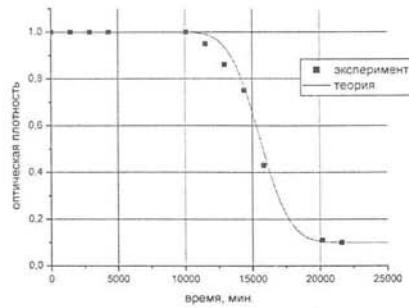


Рис. 1. Производная кинетической кривой по времени

В общем случае влияние на мембрану дополнительных повреждающих факторов приводит к такому искажению формы кривой, что на ее производной появляются несколько максимумов (рис.2). В этом случае можно говорить о наличии в растворе нескольких популяций с гауссовым, но различным распределением функционально-структурного состояния и, соответственно, времени жизни.

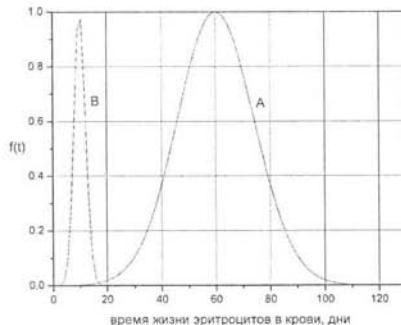


Рис. 2. Нормальное распределение времени эритроцитов для двух популяций

Воздействие импульсным электрическим полем на супензию эритроцитов

В качестве источника импульсного электрического поля использовался клинический дефибриллятор Lifepak-7 (USA) и ДИ-03 (РФ). Электрический импульс подводился к силовым электродам 2, сделанным из титана, которые опускались в кварцевую кювету 1 (рис. 3). В нее наливалась супензия эритроцитов в физиологическом растворе 4.

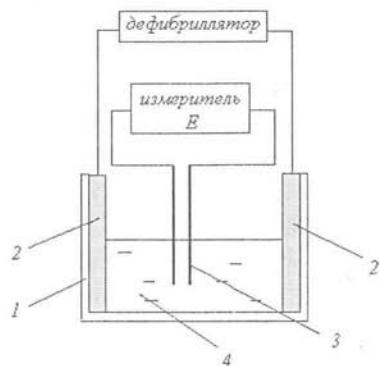


Рис. 3. Экспериментальная установка для воздействия импульсным электрическим полем на мембранны эритроцитов в супензии.

Электроды полностью покрывали боковые стороны кюветы, что обеспечивало однородность создаваемого электрического поля в растворе.

Во всех сериях опытов определяли величину напряженности внешнего поля с помощью измерительных иголок 3. Измерительные иголки также использовали для оценки однородности поля в объеме супензии. Для этого подавали контрольное переменное поле на силовые электроды 2 и измеряли разность потенциалов между иголками 3, устанавливая их в разных секторах кюветы.

Электрическое напряжение, а следовательно, и напряженность поля в растворе определяются энергией импульса, задаваемой дефибриллятором и сопротивлением раствора, зависящим от параметров раствора в кювете. В кювету наливалось 3 мм супензии. Расстояние между электродами 17 мм, ширина кюветы 30 мм,

высота суспензии 4 мм. Измеренное сопротивление раствора при этом составило 100 Ом. Для энергии импульса 230 Дж амплитуда напряжения импульса составила 2900 В, что соответствовало напряженности поля в растворе 1700 В/см.

Эритроциты подвергались воздействию одиночного однополярного импульса, двух однополярных импульсов или двух разнополярных импульсов. В ряде опытов подавали два биполярных импульса с соотношением амплитуд 1:0,4 либо в одной фазе, либо в противофазе.

Таблица 1
Величина напряжения электрического поля в суспензии для различных
энергий электрического импульса

E , Дж	50	100	200	300	360
U , В	1380	1960	2760	3360	3720

Длительность импульса 10 мс, время между двойными импульсами 1 с. Амплитуды импульсов во всех сериях опытов оставались постоянными и равными 2900 В.

Облучение суспензии пучком ускоренных электронов

Экспериментально исследовалась кинетика гемолиза эритроцитов, подвергнувшихся воздействию пучка ускоренных электронов. Эксперименты проводились на *Разрезном микротроне импульсного действия*. В НИИЯФ им. Д.В. Скobelцына МГУ им.М.В. Ломоносова создан ускоритель – разрезной микротрон импульсного действия с максимальной энергией пучка 70 МэВ (зав. ускорительным комплексом доктор физ-матем. наук, проф. Ишханов Б.С.). Эксперименты выполняли совместно с кафедрой ФУВЭ физического факультета МГУ (зам. зав. каф. Черняев А.П., студенты Фомина У.А., Алексеева П.Ю., Горбунов П.В.)

Основные параметры ускорителя представлены в табл. 2 .

Таблица 2

Параметры разрезного микротрона 70 МэВ

Энергия инжекции	50 кэВ
Прирост энергии / оборот	5,26 МэВ
Число оборотов	14
Энергия на выходе	70 МэВ
Увеличение длины орбиты / оборот	1 λ
Рабочая частота	2856 МГц
Ток пучка при 70 МэВ	45 мА
Индукция магнитного поля	0,9 Т
Размеры ускорителя	2 x 0,6 x 0,6 куб. м.

Как можно видеть на табл., энергию пучка на выходе можно варьировать. Мы проводили наши эксперименты при энергии 40 МэВ. На расстоянии 30 см от выхода ускорителя по направлению пучка ставилась колба с суспензией эритроцитов. На расстоянии 3 см от выхода ускорителя на пути пучка помещалась титановая фольга 100 мкм, рассеивающая пучок электронов. Это позволяло создать условия равномерного облучения кюветы с суспензией.

Параметры пучка при энергии электронов 40 МэВ: ток в импульсе $I=(0.7-1)$ мА, средний ток $I_{cp.}=(0.02-0.05)$ мкА, длительность импульса $\tau=4-5$ мкс, частота следования импульсов $f=10$ Гц.

Схема эксперимента показана на рис. 4.

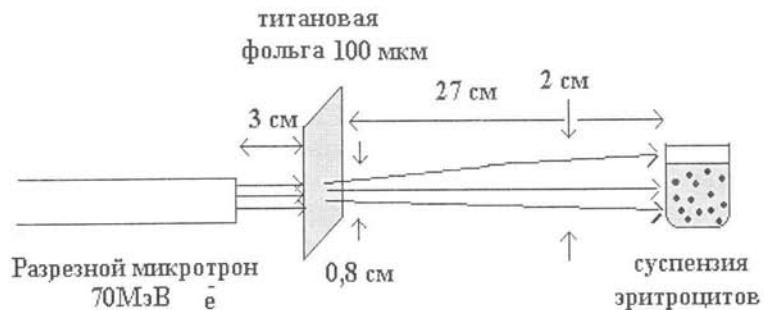


Рис. 4. Схема облучения суспензии эритроцитов пучком ускоренных электронов.

Измеряя оптическую плотность раствора с помощью фотоколориметра, можно получить информацию о количестве эритроцитов, имеющихся в данный момент времени в суспензии. Тем самым можно экспериментально построить кинетические кривые гемолиза эритроцитов в данных условиях. В 1 мл исходной суспензии примерно 230 млн. эритроцитов, оптическая плотность слоя 5 мм равнялась 1.

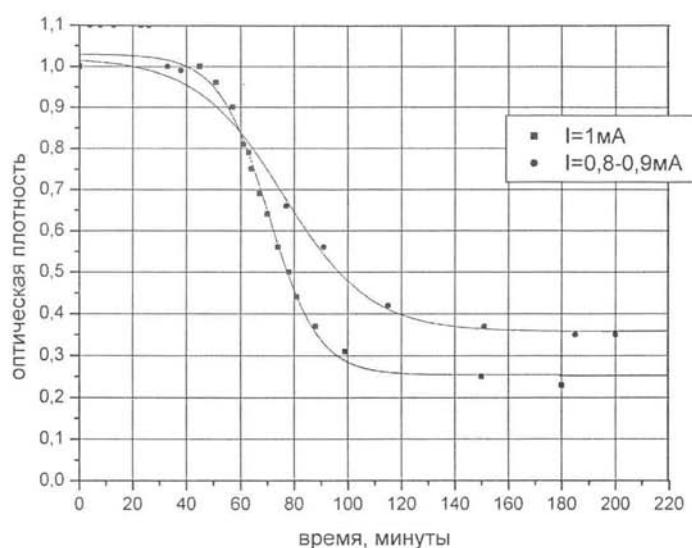


Рис. 5. Кинетические кривые в результате воздействия пучка ускоренных электронов для разных значений токов пучка ($I=1\text{mA}$, $I=0,8-0,9\text{mA}$)

Характерный вид кинетических кривых при воздействии пучка ускоренных электронов в зависимости от тока пучка представлен на рис. 5. Кинетической кривой в данном случае является зависимость оптической плотности от времени $D(t)$, поскольку оптическая плотность суспензии при гемолизе прямо пропорциональна количеству эритроцитов, находящихся в суспензии в данный момент времени.

Облучение супензии эритроцитов ультрафиолетовым излучением

Перед воздействием импульсного электрического поля в ряде экспериментов провели облучение супензии бактерицидной лампой Tungsram 15W Germicid с почти монохроматическим спектром излучения (около 95% энергии излучения в диапазоне шириной 1нм) на длине волны 254 нм. Облучение проводилось на расстоянии 15 см от лампы, толщина облучаемого слоя – 5 мм.

На рис. 6 показана схема облучения.

Время облучения, а соответственно и доза варьировались. Геометрия лампы и фильтра позволила равномерно облучать весь раствор в чашке Петри.

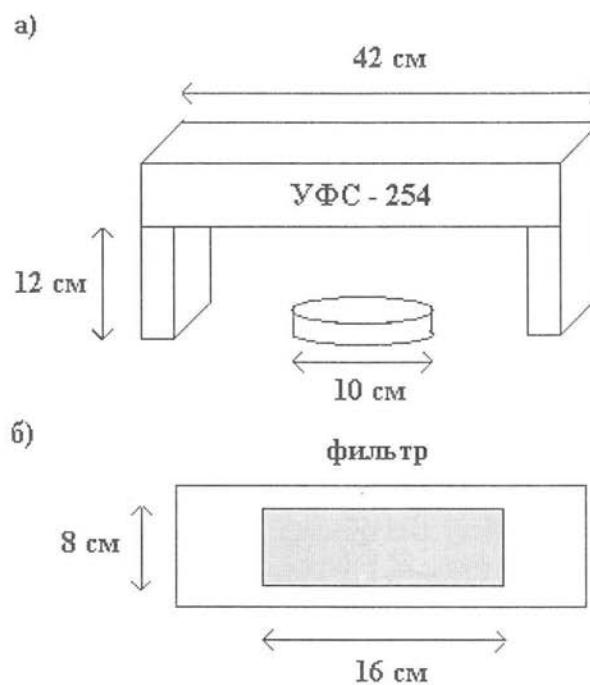


Рис. 6. а) схема облучения ультрафиолетом супензии эритроцитов;
б) размеры и форма фильтра, вырезающего длину волны $\lambda=254$ нм.

Результаты

1. Воздействие электрического импульса дефибриллятора на супензию эритроцитов

Гемолиз супензии эритроцитов, подвергшихся электропорации импульсным электрическим полем, значительно ускоряется по сравнению с гемолизом контрольной супензии. На рис.7а представлены кинетические кривые гемолиза в течение первого часа после воздействия однократным импульсом разной энергии (с разной амплитудой напряжения и соответственно с разной напряженностью электрического поля). Для сравнения приведена кривая для контрольной супензии, не подвергнувшейся электропорации.

На рис. 7 видно, что величина энергии импульса в значительной степени влияет на параметры кинетических кривых. При энергиях и импульса до 100 Дж ход кинетических кривых практически не изменяется по сравнению с контрольной кривой. Незначительные отличия от контрольных кинетических кривых наблюдались при энергии более 130 Дж. Существенные отличия проявлялись при энергиях более 200 Дж. Таким образом, данные эксперименты согласуются с общепринятым представлением, что электропорация – это пороговый эффект. С увеличением энергии электрического импульса доля эритроцитов, подвергнувшихся гемолизу, в течение первого часа возрастает, а время $T_{0.5}$, в течение которого концентрация эритроцитов падает в два раза, уменьшается.

Для анализа результатов экспериментов будем использовать следующий параметр: скорость изменения количества эритроцитов в супензии в результате воздействия внешних факторов, т.е. количество эритроцитов, гемолизированных в единицу времени: $V=dn/dt$. Скорость уменьшения эритроцитов нелинейно изменяется со временем $V=V(t)$. Так, в первые 10-30 минут скорость гемолиза может существенно превышать последующие ее значения .

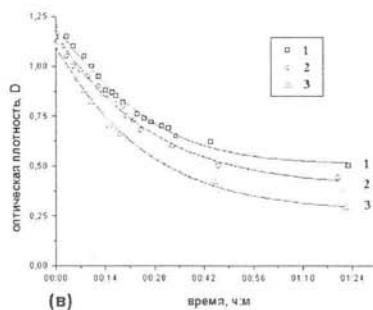
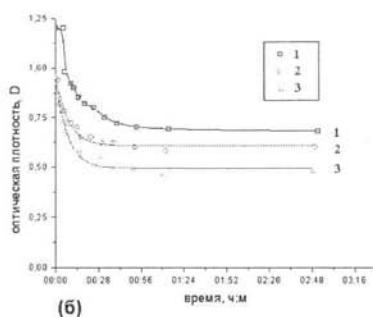
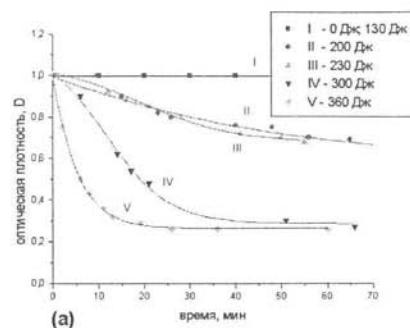


Рис. 7. Кинетические кривые гемолиза в результате электропорации:
 а) – для одиночного импульса с разными значениями энергии,
 б) – для биполярного импульса (1 – одиночный импульс, 2 – два импульса в одной фазе, 3 – два импульса в противофазе),
 в) – для экспоненциального импульса (1 – одиночный импульс, 2 – два однополярных импульса, 3 – два разнополярных импульса)

Результирующие кинетические кривые представлены на графиках (рис. 7 б, в). На них приведен результат однократного импульсного воздействия с энергией импульса $E=230$ Дж (кинетическая кривая 1), результаты последовательного воздействия импульсами одной полярности (кривая 2) и разнополярными (кривая 3). Из графиков видно, что во всех случаях кривая 3 лежит ниже двух других кривых. Кривая 2 от опыта к опыту может занимать различное положение между кривыми 1 и 2. Так, на рис. 1в кривая 2 «прижимается» к кривой 1, в других опытах она ближе к кривой 3. На рис. 7б приведены кинетические кривые после воздействия биполярными импульсами дефибриллятора ДИ-03. Этот дефибриллятор дает биполярный синусоидальный импульс с соотношением амплитуд 1:0,4. Пробойный трансмембранный потенциал формирует лишь первая полуволна. Причем порог напряжения пробоя (2900В) соответствовал таковому для одиночного импульса дефибриллятора Lifepak-7.

Кинетическая кривая 3 для двух поданных разнополярных импульсов идет ниже кривой 2 для двух однополярных импульсов той же длительности и амплитуды. Два импульса ДИ-03, поданные в противофазе, вызывали большую скорость уменьшения эритроцитов по сравнению с двумя такими же, но поданными в одной фазе. В табл. 3 приведены экспериментальные данные (для 12 серий опытов) скоростей уменьшения V числа эритроцитов для одиночного импульса, для двух однополярных импульсов V_0 и для двух разнополярных импульсов V_p . Данные приведены для указанных скоростей через 10 минут после воздействия (а) и для этих же параметров через 20 мин (б).

Показано, что при воздействии двумя импульсами скорость уменьшения числа эритроцитов больше по сравнению со скоростью уменьшения после воздействия одного импульса. Кроме этого, в 75% случаях скорость уменьшения V_p при воздействии разнополярными импульсами оказалась больше, чем скорость V_0 после воздействия однополярными. В остальных 25% они оказались практически одинаковыми.

Были оценены (для $t=10$ мин) средние значения скоростей и отклонения для уровня значимости $p=0,05$ (табл.1 с):

Таблица 3

Скорости гемолиза для разных форм импульсов

(a) 10 мин	1	2	3	4	5	6
	0,018	0,01	0,01	0,009	0,005	0,005
	0,02	0,022	0,016	0,025	0,02	0,02
	0,03	0,031	0,025	0,03	0,021	0,034
	7	8	9	10	11	12
	0,005	0,005	0,01	0,01	0,005	0,005
	0,005	0,014	0,031	0,02	0,008	0,024
	0,023	0,025	0,032	0,022	0,018	0,031
(б) 20 мин	1	2	3	4	5	6
	0,016	0,014	0,0075	0,013	0,0075	0,01
	0,018	0,017	0,013	0,018	0,019	0,015
	0,025	0,021	0,019	0,02	0,02	0,023
	7	8	9	10	11	12
	0,01	0,005	0,01	0,01	0,009	0,005
	0,013	0,013	0,017	0,016	0,013	0,016
	0,019	0,02	0,018	0,018	0,019	0,018
(с)	0,005	0,010	0,015	0,020	0,025	0,030

$V=0,0081+/-0,0025$, $Vo=0,0188+/-0,0046$, $Vp=0,0268+/-0,0033$. Статистическая проверка показала значимость различия средних значений.

На рис. 8 представлены графики отношений скоростей убывания числа эритроцитов при воздействии различными формами импульсов для 12 выборочных серий из 80. Время для всех серий - 10 мин. Опорный параметр отношение $V/V=1$ представлен слева всех показанных серий. Средний столбец каждой серии представляет отношение V_0/V – нормированные по V скорости для двух однополярных импульсов; справа в серии отношение V_p/V – нормированные по V скорости для разнополярных импульсов.

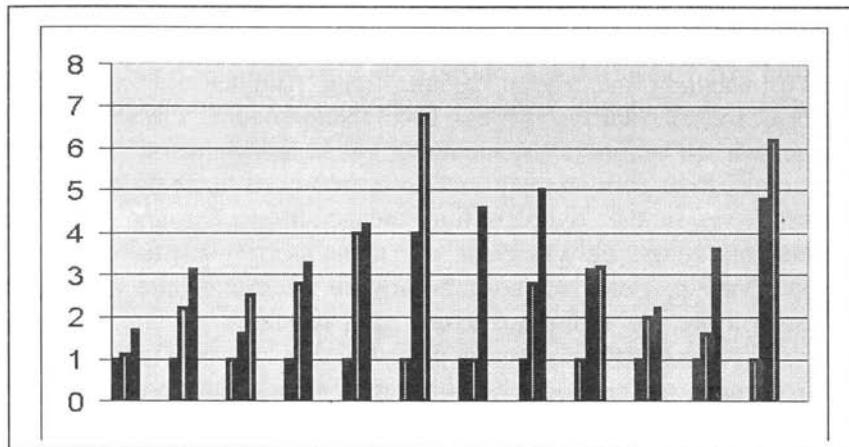


Рис. 8. Соотношение скоростей уменьшения числа эритроцитов при воздействии импульсами различной формы. Во всех сериях: левый столбец – отношение V/V (опорный параметр), средний столбец – нормированная скорость для двух однополярных импульсов, правый столбец – нормированная скорость для разнополярных импульсов.

Для всех показанных серий нормированная скорость уменьшения числа эритроцитов при действии разнополярными импульсами выше, чем нормированная скорость при действии парой однополярных импульсов. При этом амплитуды двух однополярных импульсов и двух разнополярных импульсов во всех опытах

оставались постоянными. Для времени 20 минут параметры сохраняли соотношения, показанные на рис. 8, полностью.

Из приведенных выше данных следует, что наблюдается неаддитивность скоростей при двукратном воздействии по сравнению с однократным. Чаще это наблюдается при воздействии импульсами разной полярности. Так, неаддитивность скоростей в момент времени $t=10$ мин наблюдалась в 7 случаях из 12 для однополярных импульсов ($V_0 > V$) и в 11 случаях из 12 для разнополярных ($V_p > V$). Для момента времени $t=20$ мин неаддитивность наблюдалась в 1 случае из 12 для однополярных и для 5 случаев из 12 для разнополярных.

Указанные эффекты (падение скорости уменьшения эритроцитов, неаддитивность скоростей) наблюдались для свежеприготовленной суспензии крови. Если импульсами дефибрилятора воздействовать через 10-15 мин после приготовления суспензии, то скорость уменьшения числа эритроцитов после воздействия двумя импульсами любой полярности была по-прежнему больше, чем после однократного воздействия. Однако скорости процессов почти не зависели от полярности импульсов: $V_0 > V$, $V_p > V$, $V_0 \approx V_p$. Если же воздействовать на суспензию через 30-40 мин после ее приготовления, то скорость процессов при воздействии двумя импульсами была больше, чем при однократном воздействии, но скорость уменьшения числа эритроцитов после воздействия разнополярными импульсами становилась несколько меньше, чем после воздействия однополярными: $V_p < V_0$, $V_p \approx (0.7-0.8)V_0$.

Показано, что скорость уменьшения количества эритроцитов начинает увеличиваться по сравнению со скоростью гемолиза в физиологическом растворе только при пороговом значении напряженности электрического поля E_o в растворе.

Трансмембранный потенциал $\Delta\phi_{II}$, наведенный на эритроците, рассчитывается по формуле Максвелла: $\Delta\phi_{II} = 1.5E_o R \cos\theta$, где R - радиус клетки, θ - угол между направлением E_o и радиус-вектором. Для R негемолизированных эритроцитов, равного 4 мкм, $\Delta\phi_{II}$ составляет около 450 мВ. Такое напряжение является пороговым. При меньших $\Delta\phi_{II}$ процесс электропорации идет слабо. При больших $\Delta\phi_{II}$ этот процесс идет лавинно: увеличивается количество

пор и растет их диаметр. Этот процесс зависит только от E_0 (для данного R). Поэтому и импульс Edmark - монополярная экспонента и Gurvich - биполярный синус дают одну и ту же величину порогового потенциала, хотя энергия при одном значении E_0 у этих импульсов может отличаться в 1,5 -2 раза.

В серии опытов для оценки радиуса возникающих пор использовали метод ингибиования гемолиза молекулами глюкозы. На рис. 9 приведены данные гемолиза эритроцитов после импульсного электрического воздействия. В суспензии эритроцитов после воздействия в одном случае добавляли в равных долях раствор глюкозы (5% концентрации) – кривая 1, а во втором случае добавляли физиологический раствор – кривая 2. Видно, что в присутствии глюкозы гемолиз эритроцитов существенно замедлялся. В случае, когда глюкоза ингибит осмос, делают вывод, что размер пор не превышает характерного размера глюкозы в растворе (0,7нм).

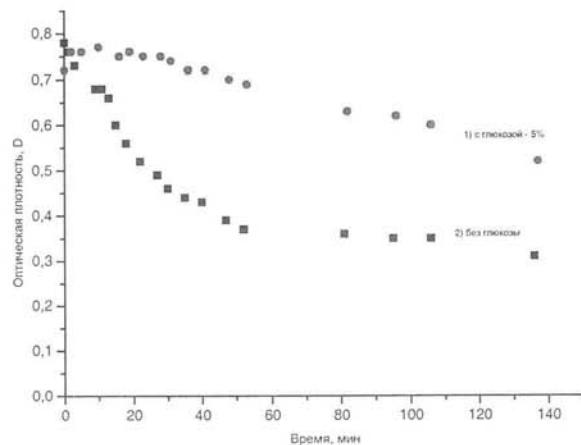


Рис. 9. Уменьшение скорости гемолиза эритроцитов после воздействия импульсного электрического поля при добавлении: 1 – раствора глюкозы, 2 – физиологического раствора.

2. Комбинированное воздействие импульсного электрического поля и пучка ускоренных электронов на суспензию эритроцитов

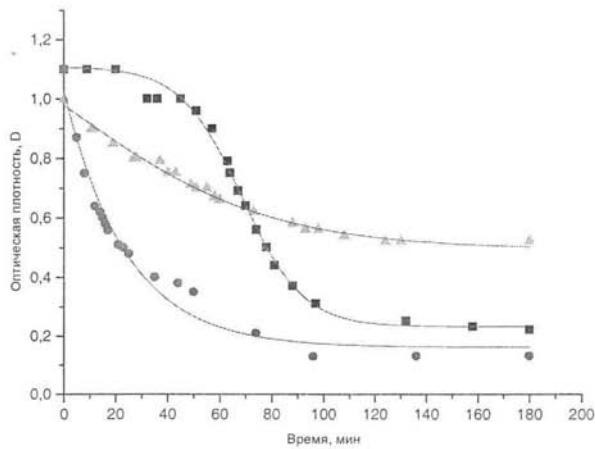


Рис. 10. Экспериментальные данные и соответствующие им кинетические кривые при облучении (4 мин) суспензии пучком ускоренных электронов кривая 1) при воздействии импульсного электрического поля с энергией 230 Дж (кривая 2) и их комбинированного действия (кривая 3)

На рис. 10 приведены кинетические кривые для $I=0,9$ мА, $E=230$ Дж. Видно, что скорость изменения численности эритроцитов после комбинированного воздействия ($Ve+E$) в первые 40мин больше, чем сумма скоростей изменения численности эритроцитов по отдельности за счет электропорации в результате воздействия импульсного электрического поля (VE) и скорости гемолиза в результате воздействия электронов (Ve):

$$Ve+E > Ve + VE.$$

На рис. 11 приведены экспериментальные данные и соответствующие им кинетические кривые при комбинированном действии пучка ускоренных электронов и импульсного электрического поля для разных значений энергий электрического импульса. Видно, что нелинейные эффекты, а именно неаддитивность скоростей наблюдается для энергий импульса более 200 Дж.

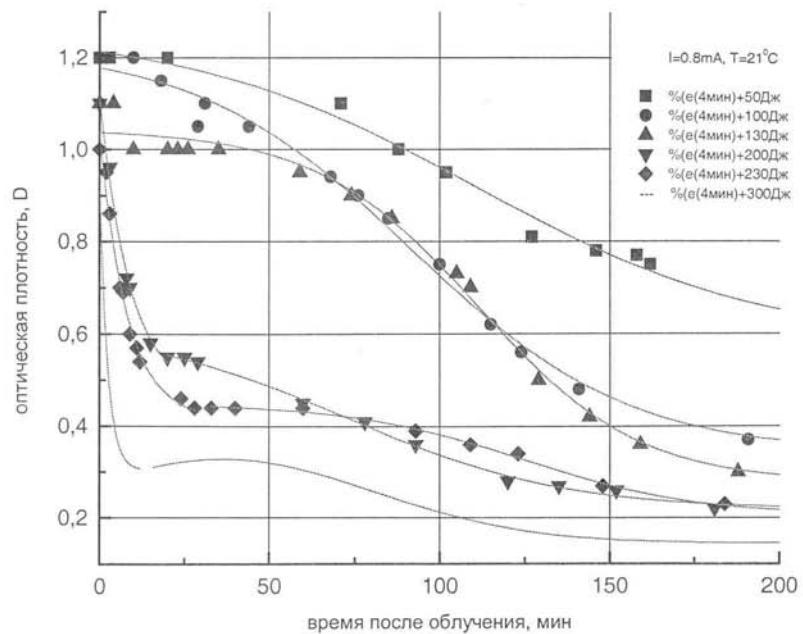


Рис. 11. Экспериментальные данные и соответствующие кинетические кривые при комбинированном воздействии для разных значений энергий электрического импульса.

Под действием ускоренных электронов изменяется состояние мембранны, что снижает порог электропорации и ускоряет гемолиз в целом.

На рис. 12 приведены скорости гемолиза эритроцитов в суспензии, облученной электронами, и в суспензии, подверженной комбинированному действию (для первых 40 мин) в зависимости от энергии электрического импульса. Скорость оценивалась по формуле

$$V = \Delta D / 60 \text{ (1/мин)}.$$

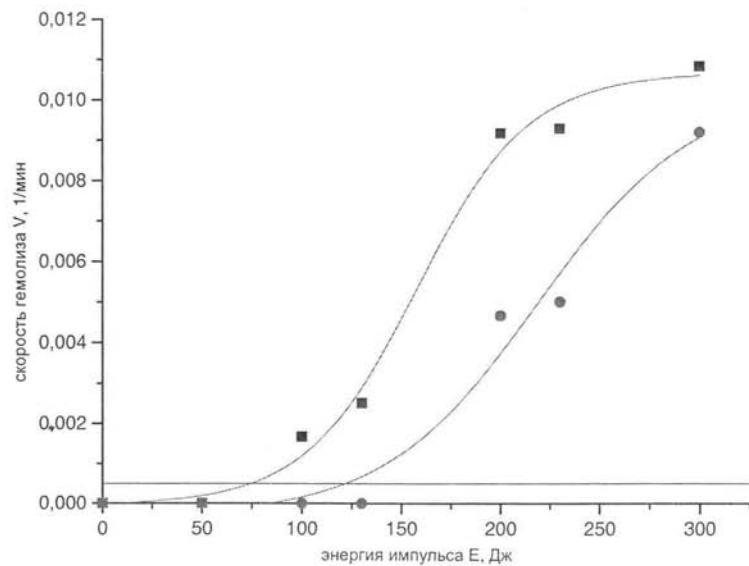


Рис. 12. Изменение порога энергии электрического импульса для развития гемолиза: зависимость скорости гемолиза от энергии электрического импульса в результате воздействия импульсного электрического поля (кривая 1) и в результате комбинированного воздействия пучка ускоренных электронов, время облучения 4 мин, ток пучка 0,9 мА (кривая 2)

Здесь наблюдается смещение “порога” энергии электрического импульса (следовательно, напряженности электрического поля), необходимой для активного развития гемолиза. Другими словами, скорость уменьшения численности эритроцитов при энергии импульса 200 Дж в суспензии, предварительно подвергнутой облучению электронами (кривая 1), становится больше, чем при энергии 230 Дж без предварительного облучения (кривая 2), рис.13.

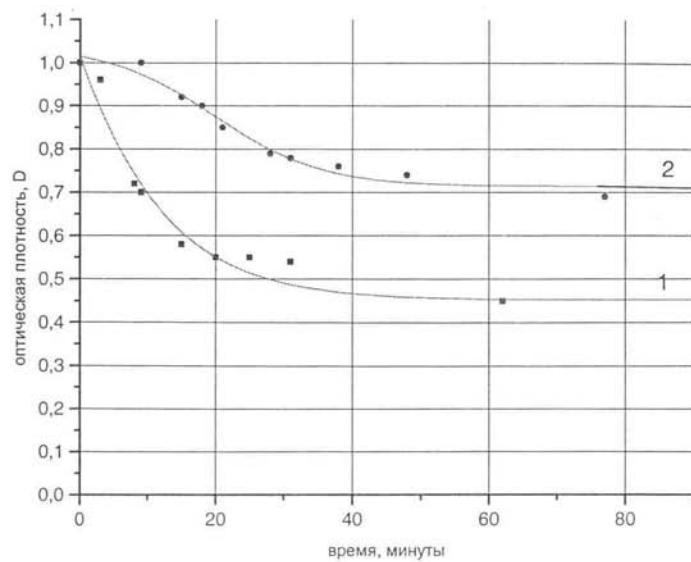


Рис. 13. Сравнение кинетики гемолиза при воздействии электрическом импульсном воздействии: 1- энергия импульса 200 Дж, супензия предварительно облучалась пучком ускоренных электронов, 2 – энергии импульса 230 Дж без предварительного облучения.

Аналогичные результаты получены для комбинированного воздействия импульсного электрического поля и ультрафиолетового облучения супензии эритроцитов (рис.14).

При комбинированном воздействии получены данные для разных значений энергий электрического импульса, для разных доз облучения, в частности для разных времен облучения и для разных значений тока пучка. Эффект неаддитивности скоростей наблюдается только при определенных сочетаниях характеристик пучка электронов и импульсного электрического поля.

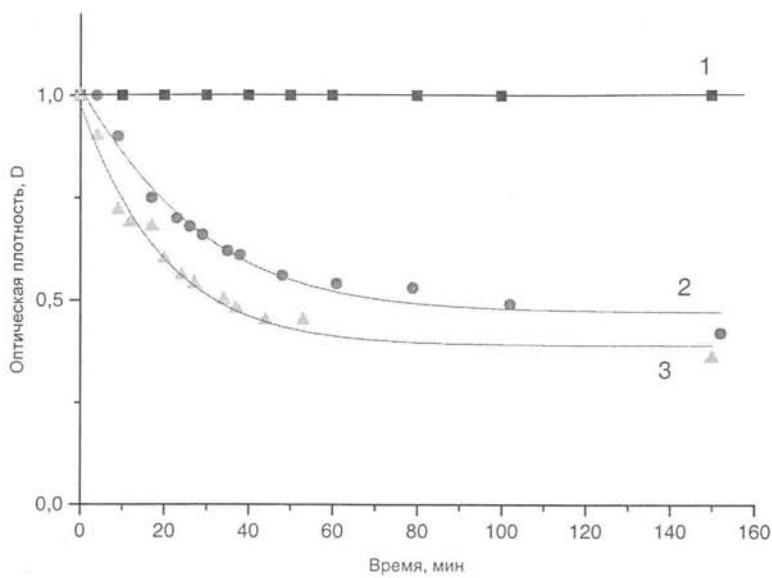


Рис. 14. Экспериментальные данные и соответствующие кинетические кривые для воздействия ультрафиолетового излучения на суспензию эритроцитов (кривая 1), импульсного электрического поля с энергией 230 Дж (кривая 2) и комбинированного воздействия (кривая 3)

3. Комбинированное действие гемолитических веществ и импульсного электрического поля

Экспериментально показано увеличение скорости процесса электропорации при добавлении в суспензию эритроцитов гемолитических веществ (эфир и мыльный раствор). Наблюдалось увеличение скорости процесса при воздействии как одиночного импульса, так и при воздействии двух импульсов. При этом величина эффекта оказалась различной при воздействии, однополярными и разнополярными импульсами. На рис. 15 представлены данные гемолиза эритроцитов в результате воздействия импульсного электрического поля с энергией поля 230 Дж, при этом в исходную суспензию эритроцитов добавляли эфир.

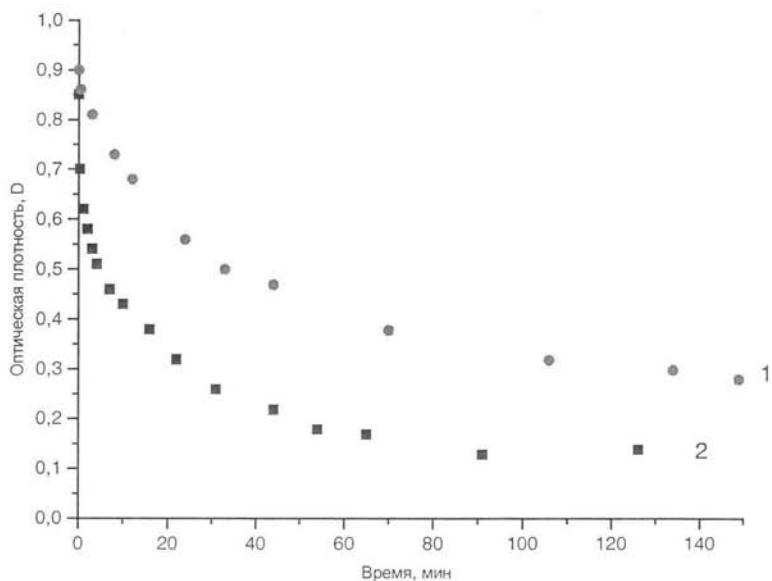


Рис.15. Экспериментальные данные изменения численности эритроцитов в супензии в результате электропорации (энергия импульса 230 Дж), в исходную супензию добавляли эфир (0,2 мл эфира на 3 мл супензии): 1 – два разнополярных импульса, 2 – два однополярных импульса

Видно, что скорость гемолиза при воздействии двух однополярных импульса существенно превышает скорость процесса при воздействии двух разнополярных импульсов. Этот эффект ярко выражен в первые минуты после воздействия. На рис. 16 представлена диаграмма относительных скоростей убывания численности эритроцитов в первые 15 мин после воздействия различными электрическими импульсами. Опорный параметр отношение $V/V=1$ представлен слева – серия А, здесь V – скорость процесса без эфира. Столбец серии В представляет отношение V_0/V – нормированные по V скорости для двух однополярных импульсов (с добавлением эфира); серия С - отношение V_p/V – нормированные по V скорости для разнополярных импульсов (с добавлением эфира). Серия Д - нормированные скорости в результате

воздействия одиночного импульса для растворов с эфиром по отношению к раствору без эфира.

Аналогичные эффекты увеличения скорости процесса получены и для мыльного раствора (рис. 17).

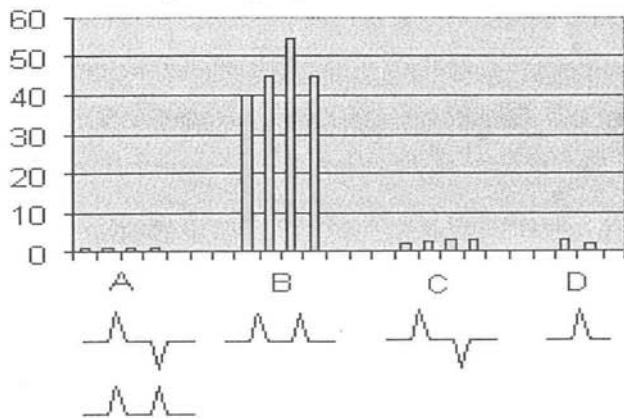


Рис. 16. Соотношение скоростей уменьшения числа эритроцитов при воздействии импульсами различной формы

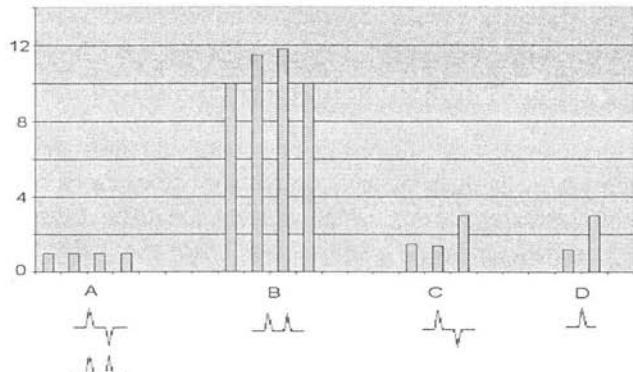


Рис.17. Соотношение скоростей уменьшения числа эритроцитов при воздействии импульсами различной формы. Серия А - опорный параметр, отношение $V/V=1$, V – скорость процесса (без мыльного раствора). Серия В - отношение V_0/V – нормированные по V скорости для двух однополярных импульсов (с добавлением мыльного раствора); серия С - отношение V_p/V - нормированные по V скорости для разнополярных импульсов (с добавлением мыльного раствора). Серия Д - нормированные данные скоростей для одиночного импульса в растворе с мылом по отношению к раствору без мыла

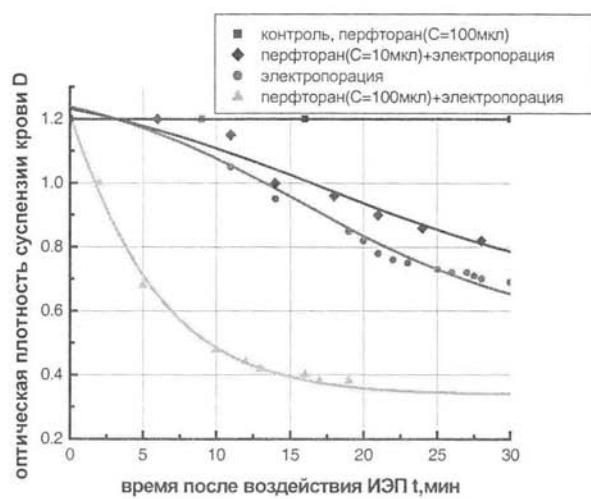


Рис. 18. Кинетические кривые гемолиза для супензии крови с перфтораном

4. Комбинированное действие импульсного электрического поля и перфторана («голубая кровь»)

Экспериментально было показано, что кинетика гемолиза эритроцитов при импульсном электрическом воздействии изменяется при добавлении в исходную супензию перфторана.

Представим результаты экспериментов.

Сравнение эффективности действия одного импульса крови на супензию крови с перфтораном

На рис. 18 представлены результаты опытов, когда перфторан добавляли в супензию *до* воздействия импульсным электрическим полем. Приведены кинетические кривые действия перфторана (концентрация 100 мкл/мл супензии и 10 мкл/мл супензии), импульсного электрического поля, энергия импульса 230 Дж и их комбинированного воздействия. Видно, что в первые 40-60 мин скорость при комбинированном воздействии $V_{\text{П+Е}}$ не равна сумме скоростей уменьшения численности эритроцитов при воздействии этих двух факторов по отдельности: перфторана $V_{\text{П}}$ и импульсного электрического поля $V_{\text{Е}}$. Так, при концентрации 100 мкл/мл выполняется неравенство:

$$V_{\text{П+Е}} > V_{\text{П}} + V_{\text{Е}}$$



Рис. 19. Гистограмма относительных скоростей гемолиза при разных концентрациях перфторана

Гистограмма экспериментальных данных относительных скоростей уменьшения численности эритроцитов для разных концентраций перфторана представлена на рис. 19.

Если перфторан добавлять в супензию *после* импульсного электрического воздействия, то наблюдается замедляющее действие перфторана вплоть до 500 мкл/мл супензии. На рис. 20 представлены зависимости относительной скорости уменьшения числа эритроцитов от концентрации соответственно для случаев добавления перфторана до и после (заштрихованная область) электропорации. По вертикальной оси отложено отношение скоростей ($V_{1,n+e} - V_{1,e})/V_{1,e}$). Видно, что эти два случая не эквивалентны друг другу. В случае добавления перфторана до импульсного воздействия скорость результирующего процесса при больших концентрациях больше суммы скоростей в результате воздействий по отдельности. При малых концентрациях перфторана наблюдается замедление процесса гемолиза в результате электропорации в обоих случаях. Добавление перфторана после импульсного электрического воздействия вызывает замедление процесса гемо-

лизи при концентрации вплоть до 500 мкл/моль, в то время как при добавлении перфторана до электропорации замедление гемолиза наблюдали только при малых концентрациях – 10-20 мкл/моль. Добавление перфторана после воздействия не приводило к ускорению процесса гемолиза.

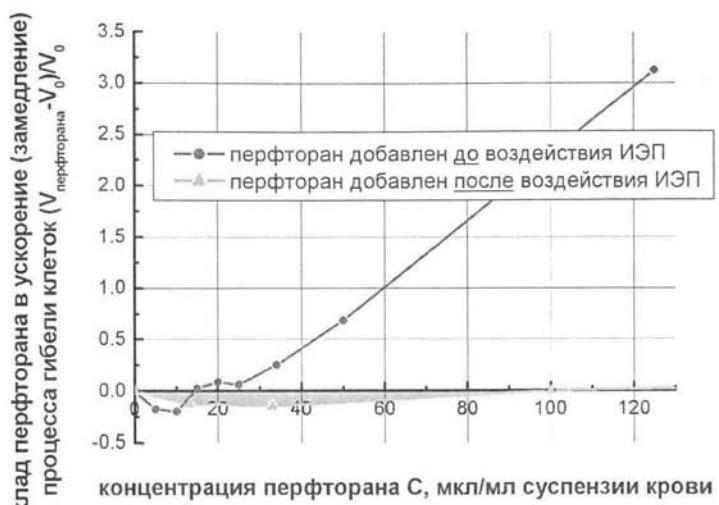


Рис. 20. Сравнение относительных скоростей гемолиза при добавлении перфторана до и после электропорации

В наших опытах мы также исследовали комбинированное действие двух последовательных импульсов как на супензию крови, так и на супензию крови с перфтораном.

Во всех случаях эффективность действия двух импульсов выше, чем эффективность действия одного импульса. За исключением, когда при большой концентрации перфторана эффективность двух импульсов в ряде опытов была равна эффективности действия одного импульса.

Сравнение эффективности действия двух импульсов на супензию крови и на супензию крови с перфтораном

Как и в случае с одним импульсом, эффективность действия двух электрических импульсов на супензию крови с перфтораном может быть как больше, так и меньше, чем воздействие двух импульсов просто на супензию крови.

При малых концентрациях перфторана (например, С=5 мкл/мл супензии) эффективность действия двух импульсов была меньше:

$$V_{\text{П+Е}} < V_E.$$

При больших концентрациях эффективность действия электрического импульса была больше:

$$V_{\text{П+Е}} > V_E.$$

Сравнение влияния перфторана на эффективность воздействия одного и двух электрических импульсов.

Для малых концентраций перфторана модуль относительного изменения эффективности для двух импульсов больше, чем для одного:

$$\text{mod} (V_{\text{П+Е}} - V_E) / V_E > \text{mod} (V_{1,\text{П+Е}} - V_{1,E}) / V_{1,E}.$$

Другими словами, замедляющий эффект перфторана усиливается в случае воздействия двумя электрическими импульсами. Причем для разнополярных импульсов эффект уменьшения эффективности воздействия больше, чем для однополярных импульсов.

Для больших концентраций относительное изменение эффективности воздействия для двух импульсов меньше, чем для одного:

$$(V_{\text{П+Е}} - V_E) / V_E < (V_{1,\text{П+Е}} - V_{1,E}) / V_{1,E}.$$

Другими словами, ускоряющий эффект перфторана уменьшается в случае воздействия двумя импульсами.

Сравнение эффективности действия первого и второго импульса.

Зная скорость процесса в результате действия двух импульсов V и скорость в результате первого импульса V_1 , можно рассчитать скорость процесса в результате действия второго импульса V_2 :

$$V_2 = V - V_1.$$

В случае воздействия двух импульсов на суспензию крови без перфторана действие второго импульса в ряде случаев равнялось действию первого импульса, а в ряде случаев в 1,5-4 раза оказывалось даже сильнее (рис. 21):

$$V_2 > V_1.$$

В случае воздействия двух импульсов на систему крови перфторан эффективность действия первого и второго импульсов определялась концентрацией перфторана.

При концентрации $C=0$ (суспензия крови) эффективность второго импульса всегда больше или равна эффективности первого импульса. Для второго импульса другой полярности эффективность воздействия становится еще выше.

При малой концентрации $C = 5$ мкл/мл эффективность второго однополярного импульса несколько выше, чем эффективность первого. А эффективность второго импульса другой полярности практически равна эффективности первого импульса.

При средних концентрациях $C = 25$ мкл/мл (область концентраций, где замедляющий эффект сменяется ускоряющим) эффективность второго импульса однополярного была лишь незначительно выше, а эффективность второго импульса другой полярности при этом была даже незначительно ниже, чем эффективность первого импульса.

При больших концентрациях $C=100$ мкл/мл во всех проделанных опытах эффективность воздействия второго импульса была меньше, чем первого импульса. На рис. 21 представлены статистические данные.

Если проанализировать эффективность действия второго импульса при больших концентрациях, то можно сделать вывод, что примерно в 30% остается ускоряющий эффект перфторана, хотя для второго импульса он составляет лишь 1,5 в отличие от 6 для первого импульса. В остальных же случаях наблюдается замедляющий эффект перфторана для второго импульса. В ряде случаев эффективность действия второго импульса равнялась почти 0. Это означало, что несмотря на то, что второй электрический импульс подавался на электроды, клетка его "не чувствовала". Этот эффект может быть связан с предысторией процессов в результате воздействия первого импульса, изменившего свойства мембранны.

При больших концентрациях также наблюдается небольшое отличие действия второго однополярного и разнополярного импульсов. По-прежнему для импульса другой полярности более выражен замедляющий эффект и менее выражен ускоряющий эффект. Так, эффективность действия второго импульса другой полярности равнялась нулю в 3 случаях из 7, а для импульса той же полярности, что и первый, лишь в 1 случае из 7.

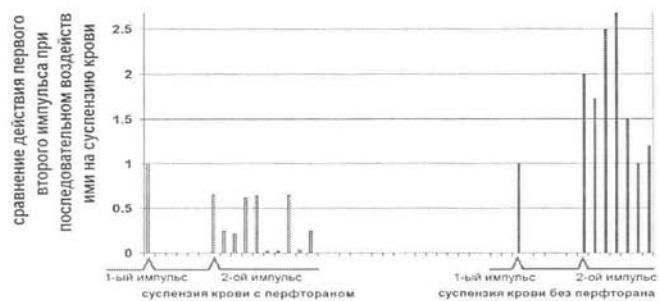


Рис. 21. Сравнение относительных скоростей гемолиза в результате действия первого и второго импульсов для супензии крови (справа) и для супензии крови с перфтораном (слева)

Комбинированное действие импульсного электрического поля, ультрафиолетового излучения на супензию крови с перфтораном

На рис. 22 представлены кинетические кривые уменьшения численности эритроцитов для различных комбинаций: электрический импульс – перфторан – ультрафиолетовое излучение. Наблюдаются нелинейные эффекты.

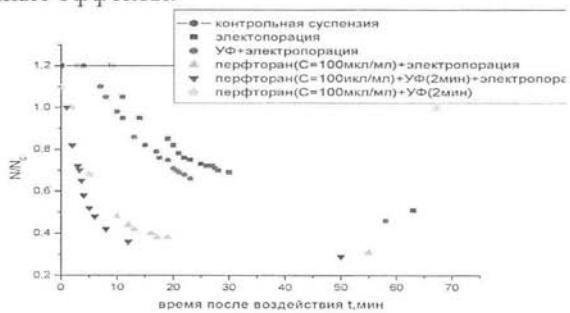


Рис. 22. Кинетические кривые для различных воздействий: импульсное электрическое поле, перфторан, ультрафиолетовое излучение

Обсуждение

При обобщении результатов всех экспериментов, представленных выше, можно выявить общую закономерность. В случае комбинированного воздействия нескольких факторов наблюдаются нелинейные эффекты, а именно: скорость уменьшения численности эритроцитов в результате комбинированного воздействия нескольких факторов больше, чем скорость процесса при воздействии этих же факторов по отдельности. В наших экспериментах исследовались следующие комбинации воздействий:

- электрический импульс - электрический импульс той же полярности;
- электрический импульс – электрический импульс другой полярности;
- электрический импульс – пучок ускоренных электронов;
- электрический импульс - ультрафиолетовое излучение;
- электрический импульс - гемолитические вещества (эфир, поверхностно-активные вещества);
- электрический импульс - перфторан («голубая кровь»).

1. Результат действия двух импульсов не является удвоенным результатом воздействия одного импульса. Это связано с совокупностью различных факторов – нормальное распределение параметров популяции клеток, изменение ориентации дискоцитов в пространстве по отношению к направлению напряженности электрического поля, изменение состояния мембранны после первого воздействия. Предыстория состояния популяции клеток для второго импульса отличалась от таковой для первого, поэтому наблюдался эффект последействия.

Наиболее интересный и важный (в рамках поставленной цели эксперимента) результат получен при действии на суспензию эритроцитов двумя разнополярными импульсами. Здесь V_p оказалась больше V_o , хотя первый импульс был положительный (как и в двух однополярных). Предыстория для второго импульса была такой же, но его действие оказалось эффективнее: за одно и то же время (10 мин) количество эритроцитов в суспензии оказывалось меньшим.

Здесь важно и то, что этот эффект выражен на эритроцитах, приготовленных не ранее чем за 10 мин до подачи импульса. На приготовленных эритроцитах за 10 – 15 мин до воздействия этот эффект сглаживался. Известно, что в первые 10 минут перенос катионов K^+ и Na^+ очень мал. Но по прошествии этого времени катионная проводимость мембраны увеличивается. В наших экспериментах мембрана пробивалась первым импульсом, и катионная проводимость возрастала скачком. Направление токов через электропорированную мембрану становилась противоположным по отношению ко второму однополярному действию. В этом случае второй импульс обратной полярности вызывал иные изменения локальных трансмембранных токов по сравнению со вторым импульсом той же полярности.

Кроме того, было показано, что разнополярные импульсы вызывают на противоположных сторонах клетки несимметричные эффекты электропорации: количество и размеры пор на сторонах клетки были различными. Подобные явления отмечались и на целостном миокарде. На процесс асимметричного образования пор существенное влияние оказывало также неоднородное распределение белков и липидов в мембране.

Эффекты последействия могут быть также связаны с релаксационными процессами поверхностной и объемной поляризации клеток под действием импульсного электрического поля. В этом случае действие вторым импульсом другой полярности не эквивалентно действию импульсов той же полярности.

В наших экспериментах наблюдаемые эффекты носили статистический характер, как и результаты действия биполярных импульсов при дефибрилляции в клинических исследованиях.

2. Экспериментально исследовано комбинированное действие импульсного электрического поля и пучка ускоренных электронов. Обнаружено, что в течение первых 10-40 мин после комбинированного действия скорость гемолиза больше, чем сумма скоростей гемолиза в результате действия пучка ускоренных и импульсного электрического поля по отдельности $V_{e+E} > V_e + V_E$. Возможно, это связано с развитием процессов в мембране под воздействием ионизирующего излучения, изменяющих ее механические и электрические свойства. Известно, что действие радиации

приводит к повышению хрупкости мембранны, что, вероятно, может снизить порог электрического пробоя. В этом случае при данном напряжении количество "дырок" при электрическом пробое должно возрасти. Другим механизмом неаддитивности скоростей может быть взаимодействие продуктов радиолиза с порами.

Следует отметить важный факт - неаддитивный эффект скоростей при комбинированном воздействии наиболее ярко наблюдается при определенных сочетаниях параметров данных разнородных воздействий - импульсного электрического поля и пучка ускоренных электронов. В наших экспериментальных условиях он отчетливо наблюдался во всех без исключения случаях (более 50 экспериментов) для энергий электрических импульсов $E=200-300$ Дж, для импульсного тока пучка $I=0,7-1$ мА и энергии электронов $E_e=40$ МэВ. При значительном уменьшении или увеличении тока, а также при уменьшении или увеличении энергии электрического импульса этот эффект комбинированного действия уменьшался.

Характер поведения кинетических кривых, установленных экспериментально, может быть описан как суперпозиция нескольких функциональных зависимостей.

Комбинированное воздействие пучка ускоренных электронов и импульсного электрического поля на биологическую мембрану представляет научный интерес, в частности как проблема анализа нелинейного отклика системы на совокупность разнородных воздействий. Кроме того, данное направление исследования представляет интерес в связи с проблемой воздействия γ -излучения на кровь для предотвращения патологий при пересадке костного мозга, а также при стерилизации супензий. Гемолиз в условиях комбинированного воздействия может быть использован для создания биологических детекторов дозы ионизирующего излучения. Особенно важным это может оказаться при измерении больших доз.

Структурные нарушения мембран эритроцитов и капиллярной стенки при действии на ткани импульсного электрического поля и ионизирующего излучения может привести к нарушению фильтрационно-реабсорбционного равновесия и диффузионно-фильтрационного синергизма. В результате это может вызвать локальную гипоксию ткани.

Теоретически описать кинетические кривые гемолиза при комбинированном воздействии различных физических факторов довольно-таки непростая задача. Прежде всего, детально не ясен механизм такого совместного воздействия. Гемолиз эритроцитов, находящихся в физиологическом растворе, происходит в результате ингибирования активного транспорта ионов и изменения структуры мембраны эритроцита. В результате структурно-химических повреждений мембранны уменьшаются трансмембранные градиенты концентраций ионов, и происходит осмос воды внутрь эритроцита. Очевидно, что физическое воздействие ускоряет процесс повреждения, а следовательно, и гемолиз эритроцитов. Однако не всегда ясно, каким именно кинетическим закономерностям подчиняется гемолиз при том или другом воздействии. Тем более это не ясно при комбинированном воздействии.

Для понимания экспериментальных фактов комбинированного действия импульсного электрического поля и пучка ускоренных электронов (или ультрафиолетового излучения) необходимо проанализировать ряд проблем, большая часть из которых поставлена в литературе: *поверхностное и объемное повреждение, усиление начального радиационного поражения мишени, многостадийность действия ионизирующего излучения, пороговый эффект электрического пробоя мембранны клетки, характеристики эритроцитов в популяции, синергизм физических и химических процессов* при воздействии как по отдельности импульсного электрического поля и ионизирующего излучения, так и при их комбинированном действии. Анализ проблемы осложняется тем, что *не всегда известны числовые характеристики величин, необходимые не только для количественного представления, но и для качественного описания наблюдаемых в эксперименте закономерностей.*

При анализе экспериментальных фактов необходимо принять во внимание *физические неоднородности*.

Неоднородность воздействия по объектам. Как уже отмечалось, эритроциты представляют собой популяцию, их радиус подчиняется нормальному закону распределения. Импульсное электрическое поле пробивает эритроциты, если наведенный на мембране потенциал превышает критическое значение $\Delta\phi_{kp}$. Так как

форма эритроцита в супензии варьируется от дискоцита до сфеноцита, то амплитуда напряжения, наведенного на мемbrane эритроцита, будет меняться в зависимости от его формы и размера. Если эритроцит имеет форму дискоцита, то величина наведенного на мемbrane напряжения будет зависеть от угла между главной осью эллипсоида и направлением вектора напряженности электрического поля. Если этот угол составляет 90 градусов, амплитуда наведенного напряжения минимальна, если 0 градусов, то максимальна. Если эритроцит принять за сферу радиусом 7 мкм, то наведенный потенциал:

$$\Delta\varphi_{навед} \approx 1,5E_0 r \cos \theta.$$

Следовательно, можно считать, что электропорации при заданной напряженности поля в растворе E_0 подвергнутся эритроциты, радиус которых превышает критическое значение:

$$r > r_{крит}, \quad r_{крит} = \frac{\Delta\varphi_{навед}}{1,5E_0 \cos \theta}.$$

Напряженность электрического поля в растворе E_0 определяется приложенным к электродам напряжением. Чем больше энергия электрического импульса дефибриллятора, тем больше амплитуда подаваемого напряжения и тем меньше критический радиус эритроцитов и соответственно больше доля эритроцитов, подвергающихся электрическому пробою:

$$n = n_0 \operatorname{erf}\left(\frac{r - r_{крит}}{2\sigma_{крит}}\right).$$

Неоднородность по времени воздействия. Для дефибрилляции используется экспоненциально-уменьшающийся во времени электрический импульс. В результате напряженность поля в растворе, а соответственно и величина критического радиуса зависит от времени. В результате критический радиус соответственно будет тоже изменяться со временем. И может оказаться, что для малых радиусов условие электрического пробоя будет выполняться только в течение очень малого промежутка времени, в то время как для большего радиуса этот промежуток времени, когда происходит образование пор, будет длиннее. Возможно, этот факт также влияет

на количество пор при воздействии импульсами разной энергии. В результате "неравнoprавность" физического воздействия на эритроциты разных радиусов еще больше усилится. Будут ли образовавшиеся популяции эритроцитов, являющиеся результатом такой ситуации подчиняться нормальному закону распределения, как исходная популяция, или же они должны быть описаны более сложными зависимостями – этот вопрос требует дальнейших экспериментальных и теоретических исследований.

Данные проблемы должны быть приняты во внимание при математическом описании обнаруженных в эксперименте закономерностей гемолиза эритроцитов в результате комбинированного воздействия пучка ускоренных электронов и импульсного электрического поля.

Анализ результатов осложняется возможными *физико-техническими неоднородностями* в системе. Несмотря на экспериментальную проверку однородности электрического поля в растворе, можно все-таки предположить наличие локальных областей в растворе, где условие однородности не выполняется в силу конечных размеров электродов, что может иметь место в приэлектродных областях и при физическом воздействии вызвать подразделение исходной популяции на несколько. Кроме того, как бы мы ни стремились создать условия однородного облучения суспензии пучком ускоренных эритроцитов, это непростая задача. Однородность требует уменьшения объема облучаемой суспензии, а это, в свою очередь, противоречит необходимости иметь определенный объем раствора для воздействия импульсом от дефибриллятора. В результате в реальности существует не совсем однородное распределение плотности тока в объеме колбы. А это также является причиной создания разных условий воздействия и, следовательно, подразделения исходной популяции в итоге на несколько популяций.

Отмеченные неоднородные физико-технические условия всегда реализуются при реальном облучении пациента ионизирующими излучениями, а также при дефибрилляции сердца. Поэтому поведение клеток, относящихся к разным результирующим популяциям, может представлять интерес для изучения с практической точки зрения.

3. Обнаруженные особенности электропорации в условиях добавления в исходную суспензию гемолитических веществ представляет как научный, так и практический интерес. Неясным остается механизм существенного различия воздействия на систему двух импульсов одинаковой и разной полярности. Взаимодействие молекул эфира и жирных кислот с молекулами мембранны (фосфолипиды, белки), по-видимому, усугубляет асимметричность воздействия электрического поля на разные стороны эритроцита. Представляется интересным установить закономерности уменьшения скорости гемолиза эритроцитов при добавлении в суспензию перфторана. В случае перфторана эритроцит оказывается в другом диэлектрическом окружении, что также может усугубить неоднородность электрического воздействия. Частица перфторан представляет собой сложную структуру: перфторорганическое соединение окружено проксанолом (поверхностно-активное вещество), характерный размер которой 100 нм. Необходимо исследовать как действие отдельных компонент перфторана, так и принять во внимание их комплексное воздействие на биологическую мембрану.

Заключение

Актуальным направлением современной биофизики, которое широко представлено в литературе, является выяснение механизмов влияния физических факторов на мембранны биологических клеток. Как правило, приводятся результаты воздействия того или иного фактора по отдельности. При этом не совсем ясны механизмы биологического проявления того или иного физического воздействия. Тем более остаются не до конца изученными эффекты комбинированного воздействия. Несмотря на кажущуюся простоту в постановке задачи совместного действия разных факторов на биологический объект, исследователю практически никогда не бывает ясно, как именно конкретно поведет себя система в результате такого комплексного воздействия. Непростой оказывается и оптимизация условий для яркого проявления нелинейных эффектов при воздействии на биологическую систему разнородных факторов

В данной работе представлены результаты экспериментального исследования комбинированного действия разнородных фак-

торов – пучка ускоренных электронов и импульсного электрического поля на биологическую систему в различных дозировках. В качестве биологического критерия физического воздействия выбран процесс гемолиза эритроцитов в физиологическом растворе.

Показано, что скорость уменьшения количества эритроцитов в результате комбинированного воздействия больше суммы соответствующих скоростей в результате воздействия этих факторов по отдельности. Эффект неаддитивности скоростей наблюдается только при определенных сочетаниях характеристик пучка электронов и импульсного электрического поля. Наблюдаются эффекты неоднородности воздействия на систему эритроцитов.

Данные исследования являются модельными экспериментами изучения изменения проницаемости биологических мембран в результате совместного воздействия различных физических факторов. Приведенные в работе результаты свидетельствуют об особенностях поведения системы при комбинированном воздействии и являются основой для дальнейших научных исследований.

Рекомендуемая литература

1. Богушевич М.С., Востриков В.А., Черныш А.М.Экспериментальные и теоретические проблемы электрической дефибрилляции сердца. Вестник РАМН. – 1997. – №10. – С.36 – 44.
2. Древаль В.И., Сичевская Л.В., Дорошенко В.О., Рошаль А.Д.// Структурные изменения в белках мембран эритроцитов под действием радиации. //Биофизика, - 2000, -Т. 45, Вып. 5.- С. 79-90.
3. Козлова Е.К., Черняев А.П., Фомина У.А., Черныш А.М. Моделирование влияния ионизирующего излучения на кинетику процессов в мембранных структурах (капилляр, нерв) // НИИЯФ МГ- 2001- Вып. 3. – С- 670.
4. Козлова Е.К., Черняев А.П., Черныш А.М., и др. Комбинированное действие пучка ускоренных электронов (или УФ излучения) и импульсного электрического поля на эритроциты. // НИИЯФ МГУ - 2002 - Вып. 29.- С.713.
5. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С./> Основы радиационной биофизики. МГУ, - 1982. – 428 с.
6. Лев А.А. //Ионная избирательность клеточных мембран. – М.: Наука, 1975.- С. 66-72.
7. Мороз В.В. , Богушевич М.С., Востриков В.В. и др. Влияние форм высоковольтного импульса на эффект дефибрилляции // Анестезиология и реаниматология. – 2002. - №6. – С. 60 – 63.

8. Терсков И.А., Гительзон И.И.// Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. - М.: Наука, 1967. - С.232 - 268.
9. Черныш А.М.// Биомеханика неоднородностей сердечной мышцы. - М.: Наука, 1993.- 152 с.
10. Benderitter M., Vincent-Genod L., Berroud A. et al. Radio-induced structural membrane modifications- a potential bioindicator of ionizing radiation exposure? //Int. J. Radiat. Biol. – 1999.- Vol.75, № 8.- P. 1043-1053.
11. Cansell A. Efficacite et securite des nouvelles forms de defibrillation cardiaque transthoracique. Impulsion biphasique // La revue des samu. – 2000. – Vol. 22. №6 - P. 280 - 294.
12. De Bruin K., Krassowska W. Modeling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential // Biophys. J. – 1999. – Vol. 77. №3. – P.1213 - 1224.
13. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Matteys T.N. Modeling of blood flow as the result of filtration-reabsorption processes in capillaries. //Adv. Physiol. Educ. – 2000.- Vol. 23.- P. 32 – 39.
14. Mintz P.D., Anderson G. Effect of gamma irradiation on the in vivo recovery of stored red blood cells. //Ann. Clin. Lab. Sci.- 1993.- Vol.23. №3 – P. 216 – 220.
15. Stensrud G., Passi S., Larsen T. et al. Toxicity of gamma irradiation liposomes. In vitro interaction with blood components. //In. J. Pharm.-1999. Vol. 1.- P. 33-46.
16. Vogel U., Wanner T., Bultmann B. Extensive pectoral muscle necrosis after defibrillation: nonthermal skeletal muscle damage caused by electroporation. Intensive // Care. Med.- 1998. Vol. 24. №7- P. 743-745.