

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

¹Баранов Ф. М., ²Хохлов К. О. ORCID ID 0000-0001-8101-636X

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», Екатеринбург, Российская Федерация, e-mail: k.o.khokhlov@urfu.ru

Разработка неинвазивных методов воздействия на опухолевые клетки является актуальной задачей. Проблема заключается в недостаточном изучении временной динамики клеточных ответов и отсутствии стандартизированных подходов к оптимизации параметров магнитного воздействия. Цель исследования – апробация разработанного портативного лабораторного стенда для генерации импульсного магнитного поля и выявления диапазонов параметров, при которых наблюдается различие в цитотоксическом ответе на опухолевые клетки на примере клеток аденокарциномы шейки матки (HeLa) *in vitro*. Объекты: фибробласты человека и клетки аденокарциномы шейки матки (HeLa). Воздействие проводили постоянным, однополярным и биполярным импульсными магнитными полями. Жизнеспособность оценивали в камере Горяева на 1, 3 и 7-е сутки. Морфологию – при окрашивании по Романовскому – Гимзе. Статистическая обработка – U-критерий Манна – Уитни, $n = 3$. Характер клеточного ответа определяется типом поля, длительностью экспозиции и временем наблюдения. Биполярное импульсное поле (5 мин) вызывало гибель HeLa (жизнеспособность 1 %) при сохранении фибробластов (89 %) на 7-е сутки. Продemonстрирована работоспособность портативного стенда. Получены предварительные данные о параметрах (биполярное поле, 5 мин, 35 мТл, ≤ 10 Гц), при которых наблюдается различие в жизнеспособности клеток HeLa и фибробластов *in vitro*, что создает основу для дальнейших исследований.

Ключевые слова: импульсное магнитное поле, HeLa, фибробласты, цитотоксичность, морфометрия.

INVESTIGATION OF THE IMPACT OF A PULSED MAGNETIC FIELDS ON TUMOR CELLS

¹Baranov F. M., ²Khokhlov K. O. ORCID ID 0000-0001-8101-636X

¹Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center named after V. A. Almazov” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation;

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin”, Yekaterinburg, Russian Federation, e-mail: k.o.khokhlov@urfu.ru

The development of non-invasive methods for selective targeting of tumour cells is an urgent task. The problem lies in the insufficient study of the temporal dynamics of cellular responses and the lack of standardized approaches to optimizing the parameters of magnetic exposure. The aim of the study is to test a developed portable laboratory setup for generating a pulsed magnetic field and to identify the parameter ranges in which a difference in the cytotoxic response is observed, using cervical adenocarcinoma cells (HeLa) as an example, *in vitro*. The objects of study were human fibroblasts and HeLa cervical adenocarcinoma cells. Exposure was performed using static, unipolar pulsed, and bipolar pulsed magnetic fields. Viability was assessed using a Goryaev chamber on days 1, 3, and 7. Morphology was studied after Romanowsky–Giemsa staining. Statistical processing of morphological parameter changes was performed using the Mann–Whitney U test, $n = 3$ replicates per group. The nature of the cellular response was determined by the field type, exposure duration, and time from exposure to observation. Preliminary data indicated differences in cellular response: a bipolar pulsed field (5 min) caused HeLa cell death (viability index 1 %) while preserving fibroblasts (viability index 89 %) on day 7. The functionality of the portable setup for generating pulsed magnetic fields with specified parameters was demonstrated. Preliminary data were obtained indicating the existence of parameters (bipolar field, 5 min, 35 mT, ≤ 10 Hz) at which differences in the viability of HeLa cells and fibroblasts are observed *in vitro*, providing a basis for further research. The results are limited to the two cell lines used (HeLa and HDF) and cannot be generalized to all tumour or normal cell types without further studies.

Keywords: pulsed magnetic field, HeLa, fibroblasts, cytotoxicity, morphometry.

Введение

Поиск новых селективных методов противоопухолевой терапии остается одной из приоритетных задач современной биомедицины, в частности интерес представляет исследование импульсных магнитных полей (ИМП), в отношении которых обсуждается возможность избирательного влияния на патологически измененные ткани [1, 2].

Современные данные свидетельствуют о том, что импульсные магнитные поля могут оказывать дифференцированное действие на опухолевые ткани посредством ряда механизмов, включающих нарушение целостности клеточной мембраны, модуляцию мембранного потенциала, индукцию апоптоза и интерференцию с внутриклеточными сигнальными путями. Повышенная чувствительность опухолевых клеток к данному виду воздействия объясняется особенностями их метаболизма и структурной организации, в частности уникальным составом гликокаликса и измененными свойствами мембран [3–5].

Методологическая база включает *in vitro* эксперименты с оценкой жизнеспособности, пролиферативной активности [4], мембранной целостности [6] и уровня апоптоза [7].

Эффективность воздействия ИМП зависит от формы сигнала [3] (синусоидальные, прямоугольные, наносекундные импульсные формы сигналов), а также от частоты (от 20–50 Гц до единиц МГц) [6, 7]. Существенно влияние также оказывает амплитуда поля [4, 7] и длительность импульсов. Диапазоны амплитуды составляют от 100 мкТл до 0,25 Тл, а интервал длительности от микросекунд до миллисекунд [8].

Техническая реализация подобных экспериментов требует специализированных решений: катушек Гельмгольца, соленоидов [7] и программируемых источников питания. При этом особую значимость приобретает создание мобильных и программируемых установок, позволяющих легко и гибко настраивать режимы экспозиции и интеграцию в лабораторную практику.

В связи с этим целью настоящей работы является апробация разработанного портативного лабораторного стенда для генерации импульсного магнитного поля и выявления диапазонов параметров, при которых наблюдается избирательное различие в цитотоксическом ответе на примере клеток аденокарциномы шейки матки (HeLa) в сравнении с дермальными фибробластами человека (HDF) *in vitro*. Полученные результаты носят предварительный характер, ограничены использованными двумя клеточными линиями и не могут быть экстраполированы на все типу опухолевых и нормальных клеток.

Материал и методы исследования

Лабораторный стенд

Разработке данного лабораторного стенда предшествовал опыт автора по созданию стационарной установки для воздействия импульсным магнитным полем, выполненной в

составе коллектива [9]. На указанной установке были проведены исследования на собаках со спонтанными опухолями молочных желез, которые показали подавление митотической активности опухолевых клеток [10]. Полученные результаты легли в основу создания портативного лабораторного стенда для исследований *in vitro*, сохраняющего ключевые функциональные характеристики стационарного устройства [11]. Основными преимуществами разработанного стенда являются его компактность, позволяющая размещать его непосредственно в ламинарном боксе, мобильность, обеспечивающая возможность транспортировки между лабораториями без потери точности настроек. Сравнительные характеристики стационарной и портативной установок представлены в табл. 1.

Таблица 1

Характеристики стационарной установки и лабораторного стенда

Характеристика	Портативный лабораторный стенд	Стационарная установка
Максимальная индукция МП, мТл	35	150
Максимальный ток через соленоиды, А	10	30
Выпрямленное напряжение, В	80	300
Частота следования импульсов, Гц	0–10	0–10

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования

При генерации импульсного магнитного поля с амплитудой индукции до 35 мТл амплитуда тока через соленоид составляла $10 \pm 0,1$ А.

Питание стенда осуществляется от стандартной сети переменного тока 220 В, 50 Гц. Стенд включает два соленоида, блок управления на базе Arduino NANO и ПК для задания параметров воздействия. Блок-схема приведена на рис. 1.

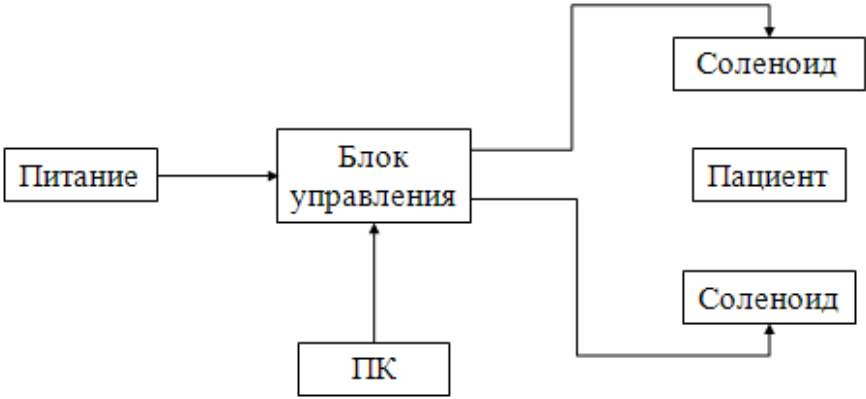


Рис. 1. Структурная блок-схема.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Соленоиды имеют плоскую цилиндрическую форму. Внутренний диаметр обмотки 15 мм, внешний диаметр 150 мм, толщина обмотки 30 мм, количество витков определяется заполнением обмотки проводом литцендрат марки оПП1 80х0,02. Расстояние между соленоидами может варьироваться в диапазоне от 10 до 90 мм. Образцы в чашках Петри диаметром 35 мм размещались таким образом, что дно чашки с монослоем клеток находилось в геометрическом центре рабочей зоны на нижнем соленоиде. Расстояние от торца соленоида до дна чашки с клеточным монослоем составляло не более 5 мм. Для предотвращения испарения среды во время экспозиции чашки герметично закрывали крышками. Экспозицию проводили при комнатной температуре.

Рабочая зона представляет собой цилиндрический объем диаметром 150 мм и высотой от 10 до 90 мм. Карта распределения магнитной индукции рабочей зоны при токе 5 А и высоте 50 мм представлена на рис. 2. Измерение индукции выполнено с помощью датчика Холла AD22151 (точность $\pm 1\%$). Неоднородность магнитного поля на нижнем крае цилиндра в пределах рабочей зоны (диаметр ≈ 35 мм) не превышала $\pm 13\%$. На краях рабочей зоны отмечено снижение индукции до 2 мТл.

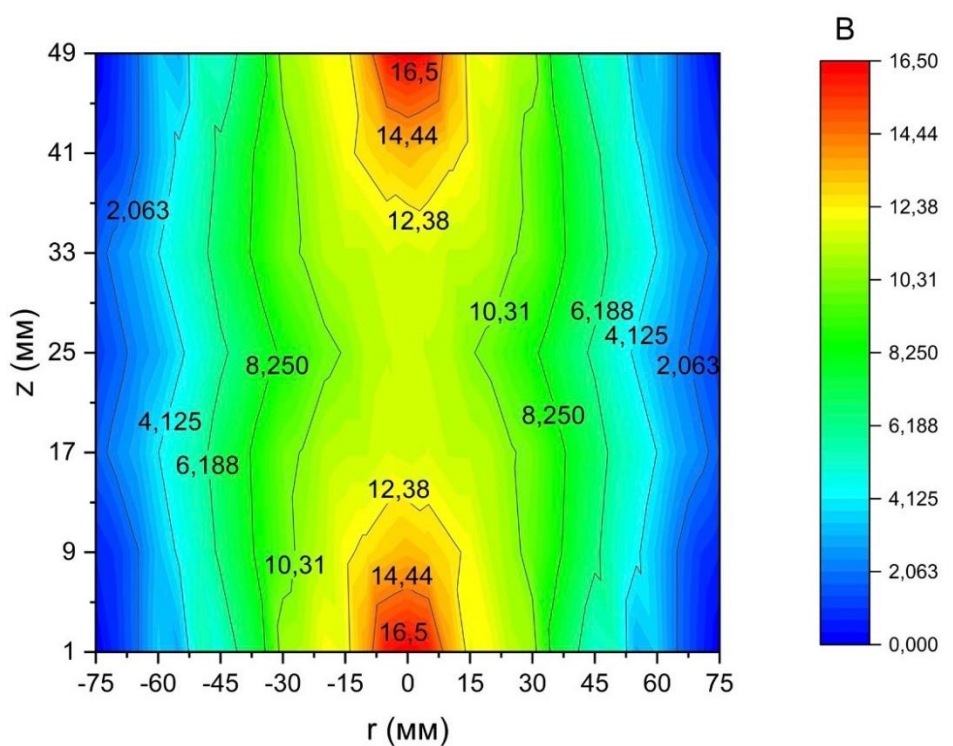


Рис. 2. Карта распределения магнитной индукции внутри рабочей зоны (значения индукции в мТл).

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Погрешность установки индукции магнитного поля составляла $\pm 1,5$ мТл для режима 35 мТл, погрешность частоты следования импульсов не превышает $\pm 0,1$ Гц, погрешность длительности импульса находится в пределах ± 2 мс.

Дизайн исследования

Дизайн исследования представлял собой открытое контролируемое экспериментальное исследование *in vitro* с параллельными группами.

В качестве модельных объектов использовали две линии клеток человека: нормальные нетрансформированные дермальные фибробласты (HDF), выделенные в лаборатории клеточных культур Института медицинских клеточных технологий (Екатеринбург) в соответствии с принципами GLP и идентифицированные по STR профилю согласно ATCC SDO-1. Опухолевые клетки эпителиоидной карциномы шейки матки линии HeLa получены из Коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург) и аутентифицированы по каталогу ATCC (CCL-2). Клетки культивировали в среде DMEM («Биолот») с добавлением 1 % глутамина, 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («Биолот») и гентамицина (50 мкг/мл) при температуре 37 °C во влажной атмосфере с содержанием 5 % CO₂ (ISO 14644-1). Для экспериментов клетки рассеивали в 96-луночные планшеты в посевной дозе 2×10^5 клеток/мл и культивировали в течение 24 ч (ISO 8655). Пассирование фибробластов проводили при достижении 80–90 % конфлюэнтности с использованием 0,25 % раствора трипсина-ЭДТА (ATCC Guidelines); клетки HeLa поддерживали в монослойной культуре с пассированием каждые 3–4 дня. Контроль стерильности и морфологии осуществляли еженедельно в соответствии с ОФС.1.7.2.0011.15.

Поскольку исследование выполнено исключительно на коммерчески доступных и аутентифицированных клеточных линиях (HeLa – из Коллекции клеточных культур Института цитологии РАН, HDF – из коммерческого банка клеточных культур), не включало экспериментов на животных, людях или образцах биоматериала пациентов, проведение этической экспертизы не требовалось в соответствии с локальными нормативными актами и рекомендациями ICMJE. Все клеточные линии получены из легальных коллекций с соответствующими сертификатами аутентификации, подтверждающими их происхождение, подлинность и отсутствие контаминации.

Исследование проведено по экспериментальному плану с параллельными группами и контролем: каждая серия включала группу контроля и группы, подвергнутые воздействию магнитного поля в различных режимах; все эксперименты выполнены в трех повторениях.

Однополярные импульсы (ОМП) представляли собой прямоугольные импульсы положительной (или отрицательной) полярности с частотой 2 Гц. Биполярные импульсы (БМП) представляли собой симметричные прямоугольные импульсы переменной полярности

с частотой 1 Гц. В обоих режимах коэффициент заполнения одинаковый. Время нарастания и спада импульсов не превышало 180 мкс, что позволяет считать импульсы прямоугольными.

Были сформированы следующие группы:

1. Контрольная группа (без магнитного воздействия).
2. Группа воздействия постоянным магнитным полем (ПМП): индукция до 35 мТл (максимальное значение для разработанного стенда), экспозиция 2,5 мин.
3. Группа воздействия однополярным импульсным магнитным полем: прямоугольные импульсы, амплитудой индукции до 35 мТл, частота 2 Гц, длительность импульса 250 мс, коэффициентом заполнения около 50 %, экспозиция 5 мин.
4. Группа воздействия биполярным импульсным магнитным полем: симметричные прямоугольные импульсы, амплитуда индукции до 35 мТл, частота 1 Гц, длительность импульсов 250 мс, коэффициент заполнения 50 %, экспозиция 5 мин и 10 мин.

Формирование требуемых параметров магнитного поля осуществлялось с помощью специально разработанного портативного лабораторного стенда (рис. 3).

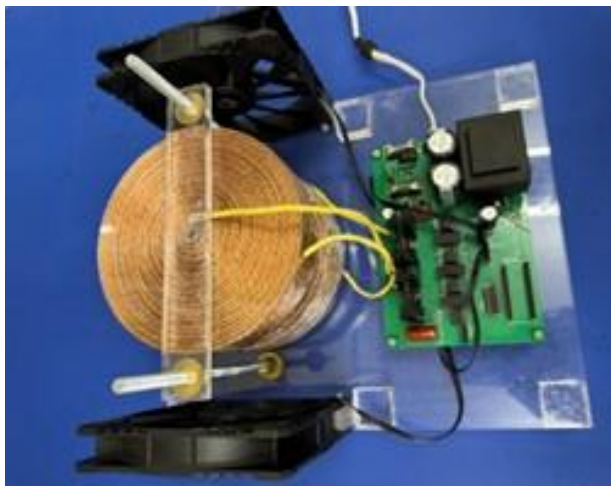


Рис. 3. Внешний вид стенда.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Индекс жизнеспособности (ИЖ) определяли методом подсчета жизнеспособных клеток в камере Горяева в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20391-1-2023 [12]. Подсчет проводили на 1, 3 и 7-е сутки после воздействия.

Жизнеспособными считали клетки, сохраняющие характерную морфологию и не окрашивающиеся 0,4 % раствором трипанового синего. ИЖ рассчитывали по формуле

$$\text{ИЖ (\%)} = (\text{N}_{\text{опыт}} / \text{N}_{\text{контроль}}) \times 100 \%,$$

где $\text{N}_{\text{опыт}}$ – среднее число жизнеспособных клеток в экспериментальной группе,

$\text{N}_{\text{контроль}}$ – среднее число жизнеспособных клеток в контрольной группе при соответствующем сроке культивирования.

Все эксперименты выполнены в трех независимых повторностях ($n = 3$). Полученные данные сводили в таблицы и обрабатывали в Excel. Результаты представлены в формате среднее значение $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$).

Морфометрическое исследование проводили на 7-е сутки после воздействия. Клетки фиксировали метанолом в течение 10 мин, окрашивали по Романовскому – Гимзе (по стандартной методике). Для каждой экспериментальной группы использовались 3 биологических повтора (независимые чашки Петри). В каждой чашке случайным образом выбирали 5 полей зрения (увеличение $\times 400$). На каждую чашку приходилось 5 измерений, которые усредняли до одного значения от чашки. Измерение площади ядер и длины клеток выполняли с использованием программного обеспечения ImageJ (версия 1.53, NIH, США). Калибровка проводилась по объект-микрометру.

Независимой статистической единицей считали чашку Петри (биологический повтор, $n = 3$ на группу). Проверку нормальности распределения выполняли с помощью критерия Шапиро – Уилка. В связи с отсутствием нормальности ($p < 0,05$) для сравнения групп применяли непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Уровень статистической значимости 0,05.

Для групп с крайне низкой жизнеспособностью (HeLa, БМП 5 мин, ИЖ = 1 %) морфометрический анализ не проводился ввиду отсутствия репрезентативности числа клеток.

Результаты исследования и их обсуждение

Индекс жизнеспособности клеток после магнитного воздействия

Анализ индекса жизнеспособности (ИЖ) дермальных фибробластов и клеток HeLa после воздействия магнитного поля (МП) выявил зависимость клеточного ответа от типа поля, длительности экспозиции и времени от момента воздействия до наблюдения. Результаты оценки ИЖ представлены на рис. 4 (фибробласты) и рис. 5 (HeLa).

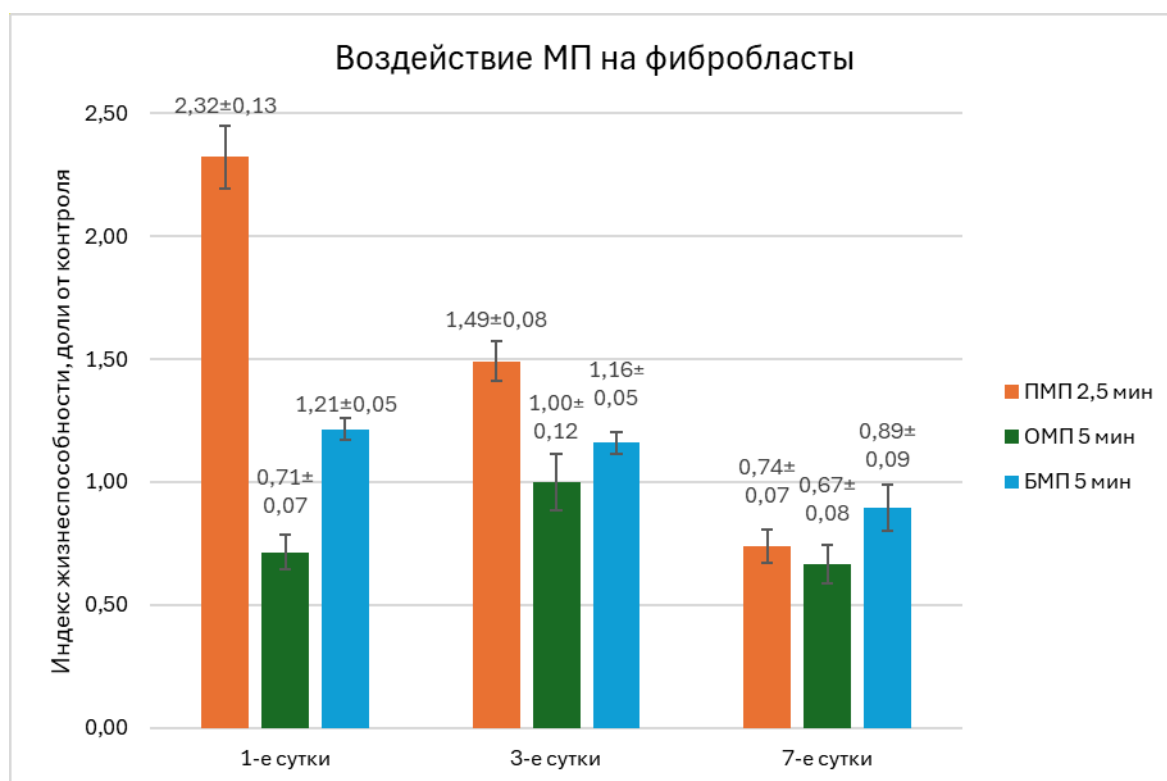


Рис. 4. Результаты оценки ИЖ клеток после воздействия МП (фибробласты). Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 3$. Данные носят предварительный описательный характер.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

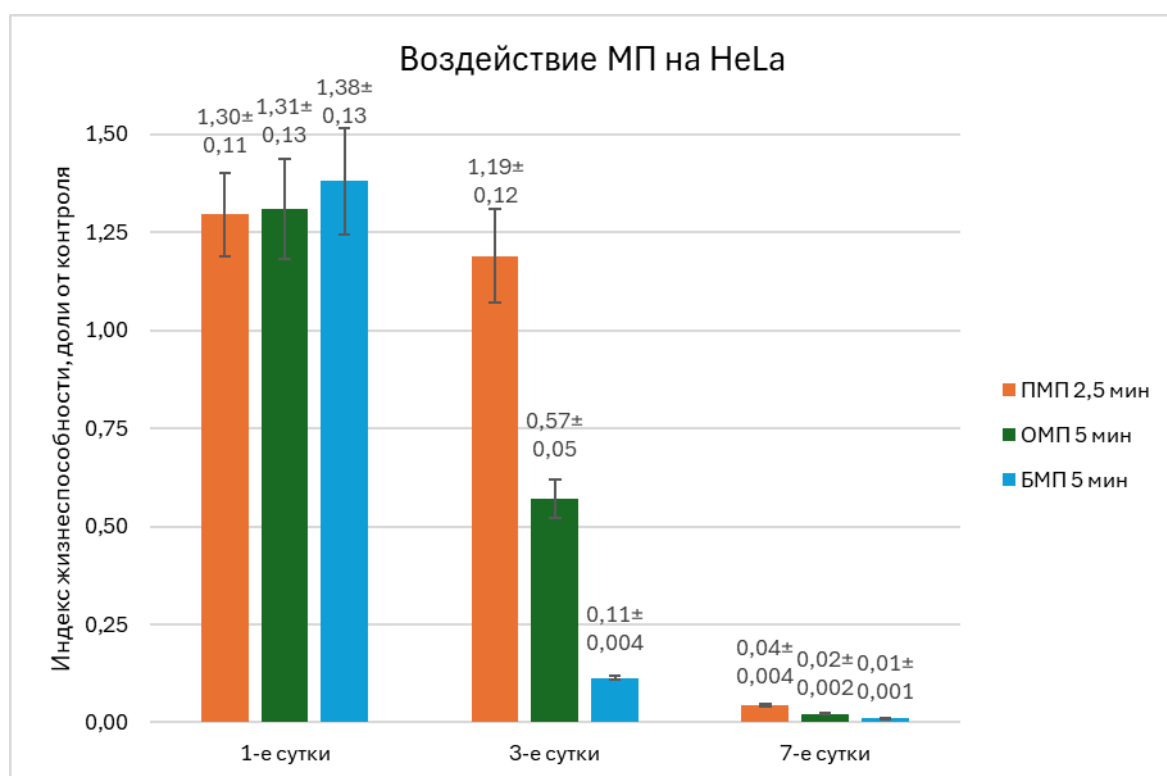


Рис. 5. Результаты оценки ИЖ клеток после воздействия МП (HeLa). Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 3$. Данные носят предварительный описательный характер.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Анализ индекса жизнеспособности. Факторы, определяющие клеточный ответ

В рамках данной серии экспериментов под клеточным ответом понимается количественное изменение жизнеспособности, характерное для каждого клеточного типа при конкретном режиме воздействия. Анализ динамики индекса жизнеспособности (рис. 4, 5) показал, что характер клеточного ответа определяется типом поля, длительностью экспозиции и сроком наблюдения. При $n = 3$ данные носят предварительный описательный характер, однако наблюдаемые различия между фибробластами и клетками HeLa достигают величины, позволяющей планировать расширенные исследования с большим объемом выборки. За контроль принимали клетки, которые культивировались в тех же условиях, но не подвергались воздействию МП. Их показатели жизнеспособности и морфометрические параметры принимали за 100 %. В одних и тех же условиях фибробласты и HeLa показали противоположные изменения в выживаемости, что указывает на различия в клеточных механизмах, определяющих чувствительность к магнитному полю.

Результаты для дермальных фибробластов представлены на рис. 4 (данные $M \pm SD$, $n = 3$). На 1-е сутки после ОМП отмечено снижение ИЖ в среднем до 71 %. На 3-и сутки во всех экспериментальных группах ИЖ фибробластов сохранялся и даже рос относительно контроля до 1,5 раз. На 7-е сутки при БМП 5 мин ИЖ составил 89 %, при ПМП и ОМП 75–90 %. Таким образом, при экспозиции 5 мин БМП не вызывает снижения жизнеспособности нормальных фибробластов.

Результаты для клеток линии HeLa представлены на рис. 5 ($M \pm SD$, $n = 3$). На 1-е сутки после воздействия наблюдается стимулирующий эффект, ИЖ во всех экспериментальных группах составлял 100–140 %. На 3-и сутки после воздействия импульсного магнитного поля (ОМП и БМП) ИЖ снизился до 65–70 %. На 7-е сутки зафиксирован наиболее выраженный цитотоксический эффект: при БМП 5 мин ИЖ составил 1 %, а при ОМП 5 мин ИЖ = 2 %. Различий между ОМП и БМП не выявлено.

Сравнение рис. 4 и 5 демонстрирует различие в жизнеспособности при режимах экспозиции 5 мин на 7-е сутки, на фоне жизнеспособности дермальных фибробластов ($ИЖ \geq 89 \%$) наблюдается гибель клеток HeLa ($ИЖ \leq 2 \%$).

Морфологический статус клеток на 7-е сутки

Исходя из выявленных закономерностей, был проведен дополнительный морфометрический анализ через 7 суток после облучения импульсными магнитными полями. В эксперименте также варьировалось время экспозиции. Полученные данные приведены в табл. 2.

Таблица 2

Морфологические изменения и выживаемость культур клеток

Тип клеток	Группа	ИЖ, %	Площадь ядер, М ± SD, мкм ²	Изменение площади ядер, % относительно контроля	Длина клеток, М ± SD, мкм	Изменение длины клеток, % относитель но контроля
Фибробласты	Контроль	100	35,5 ± 4,1	—	56,5 ± 6,2	—
	БМП 5 мин	89	53,2 ± 5,0	49,8	58,2 ± 5,9	2,9
	БМП 10 мин	16	43,4 ± 4,8	22,0	76,2 ± 8,1	34,8
	ОМП 5 мин	67	43,4 ± 4,9	22,0	65,4 ± 7,0	15,8
HeLa	Контроль	100	27,5 ± 3,8	—	18,3 ± 2,9	—
	БМП 5 мин	1	н/д	н/д	н/д	н/д
	ОМП 5 мин	2	44,6 ± 3,2	62,3	27,6 ± 2,0	50,8

Примечание: составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования

Проведенный морфометрический анализ в совокупности с оценкой жизнеспособности в зависимости от экспозиции показал, что десятиминутная экспозиция биполярного поля представляет собой критический уровень для нормальных фибробластов: морфологические признаки адаптации (умеренный рост ядер) трансформируются в признаки деструкции (патологическое удлинение клеток). Изменения, согласно обработке данных по критерию Манна – Уитни, статистически значимы: $p = 0,028 < 0,05$, $U = 2,0$. В связи с этим 10-минутный режим экспозиции исключен из анализа действия на клетки HeLa, поскольку его применение противоречит поставленной задаче по достижению цитотоксического эффекта в отношении клеток HeLa при сохранении дермальных фибробластов.

Полученные в данной серии экспериментов результаты воспроизводят и дополняют закономерности, установленные при анализе жизнеспособности, что подтверждается гистограммами на рис. 6 и 7.

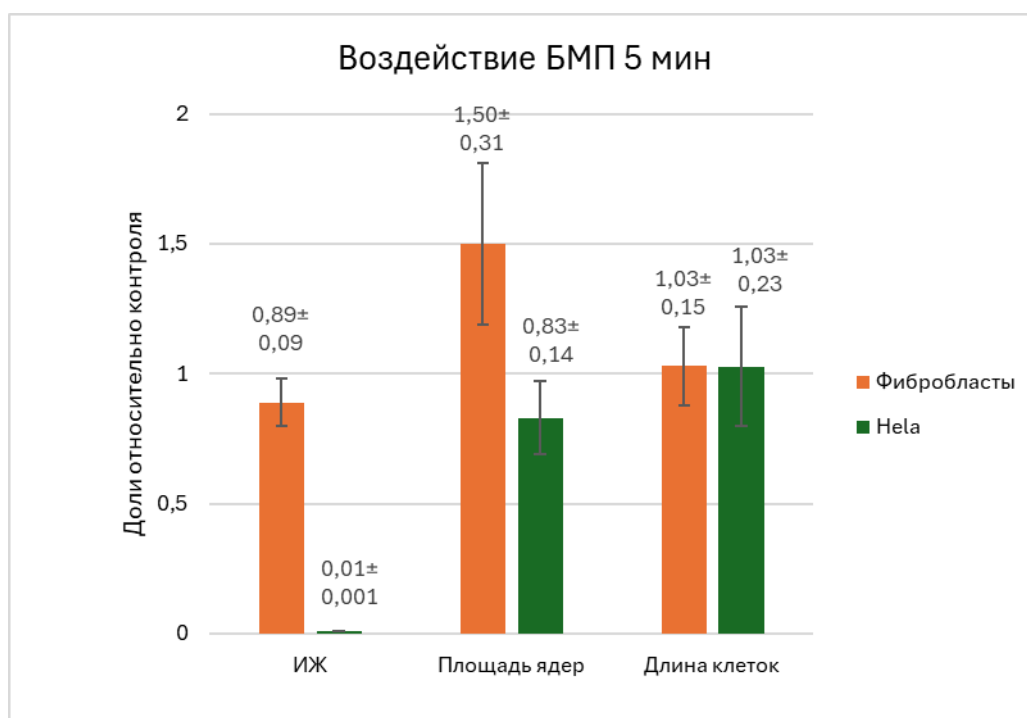


Рис. 6. Морфология клеток (окраска по Романовскому – Гимзе, $\times 400$).

Для воздействия БМП в течение 5 мин.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

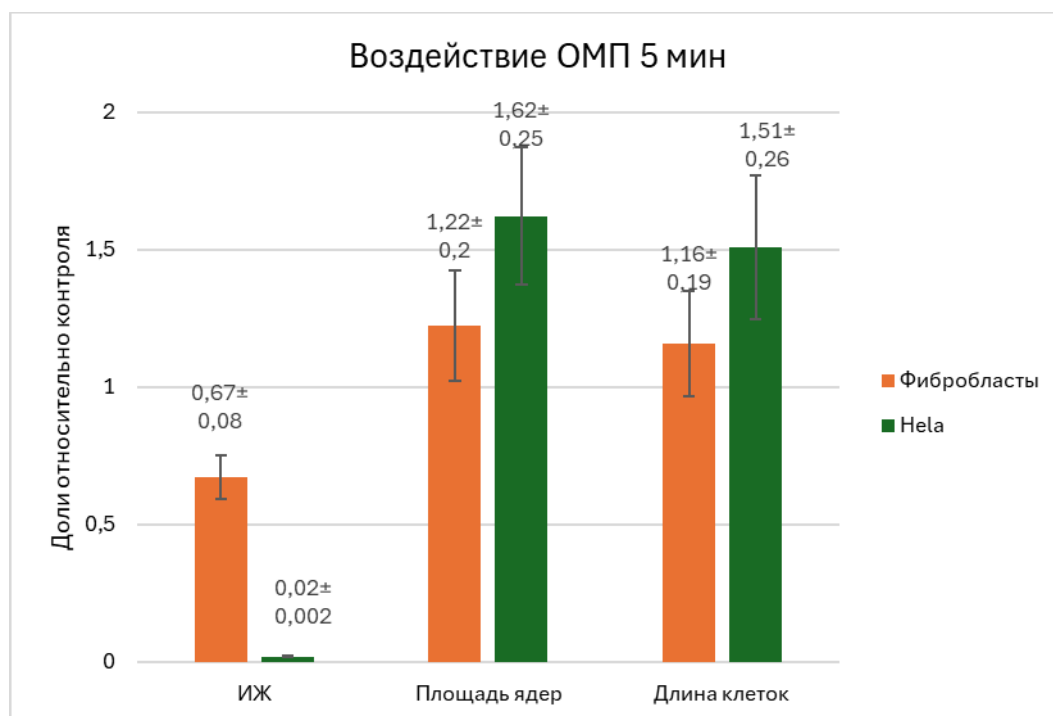


Рис. 7. Морфология клеток (окраска по Романовскому – Гимзе, $\times 400$).

Для воздействия ОМП в течение 5 мин.

Примечание: составлен авторами по результатам данного исследования

Показано более выраженное угнетение клеток HeLa по сравнению с дермальными фибробластами в режимах биполярного (рис. 6) и однополярного (рис. 7) импульсных

воздействий в течение 5 мин, однако сравнительный анализ морфометрических показателей выявил различные механизмы реагирования клеток HeLa на импульсные поля.

Так, клетки фибробластов в том и другом случае показали достоверное увеличение площади ядер на 49,8 % при сохранении или незначительном увеличении длины клеток на 2,9 %, откуда можно сделать вывод, что увеличение ядерных размеров в отсутствие деструктивных изменений может интерпретироваться как признак активации синтетических процессов и адаптации к внешнему воздействию.

В отношении опухолевых клеток HeLa при воздействии БМП 5 мин жизнеспособность составила 1 %, что не позволило провести репрезентативный морфометрический анализ (единичные выжившие клетки). Для группы ОМП 5 мин (ИЖ = 2 %) морфометрический анализ был выполнен, однако ввиду крайне малого количества выживших клеток полученные данные (гипертрофией и ядер на 62,3 %, и самих клеток на 50,8 % относительно контроля) носят исключительно предварительный, описательный характер и не могут быть использованы для статистических выводов о механизме гибели. Размер ядра строго регулируется в нормальных клетках, и его отклонения тесно связаны с клеточной дисфункцией и гибелью. Уменьшение ядра (пикноз) является характерным признаком апоптоза и характеризуется конденсацией хроматина и компактизацией ядра. Таким образом, можно высказать предположение, что сдвиг размеров ядер как в одну (в сторону уменьшения), так и в другую сторону (в сторону гипертрофии) относительно некоторого «коридора нормальных значений» может быть одним из механизмов, участвующих в гибели клеток. В рамках рабочей гипотезы это может указывать на потенциальную разницу в чувствительности между изученными линиями, однако для подтверждения этой гипотезы требуются дальнейшие исследования.

Полученные данные на двух изученных линиях (HeLa и HDF) подтверждают гипотезу о наличии различной чувствительности между этими конкретными клеточными типами при отдельных режимах воздействия. Важно подчеркнуть, что эти результаты ограничены использованием только двух клеточных линий и не могут быть экстраполированы на все опухолевые или все нормальные клетки без дополнительных исследований на расширенной панели клеточных моделей. Однако это согласуется с литературными данными о повышении уязвимости некоторых злокачественных клеток к физическим воздействиям [13]. Представленная конфигурация портативного стенда развивает предшествующие технические решения коллектива. В работе, помимо ранее выявленных в литературе статических различий в чувствительности нормальных и опухолевых клеток [14, 15], показано изменение различий в клеточном ответе в зависимости от времени, прошедшего после воздействия, устойчивое подавление опухолевых клеток отмечено через 7 суток.

Полученный для этого периода результат коррелирует с закономерностями, выявленными в работе P. Pantelis et al. [14] при воздействии низкочастотным облучением на нормальные фибробласты и опухолевые клетки.

Кроме того, в данной работе выявлен зависимый от времени экспозиции характер клеточного ответа: в качестве порогового определено время воздействия биполярным магнитным полем 5 мин, при котором достигается максимальная гибель опухолевых клеток при достаточно высокой выживаемости нормальных. Повышение экспозиции до 10 мин вызывает цитотоксические эффекты в нормальных фибробластах. Подобная бифазная доза-зависимость с наличием критического порога описана для различных физических воздействий и отражает переход от стресс-индуцированной адаптации к повреждению [16]. Таким образом, для достижения эффекта важно учитывать не только «частотные окна» [17], но и временные параметры экспозиции.

Результаты работы [18] указывают на транзиторную активацию опухолевых клеток, что согласуется с полученными на ранних сроках после экспозиции стимулирующим эффектом воздействия магнитных полей на клетки HeLa. Можно выдвинуть гипотезу, что токсические процессы, приводящие к практически полной гибели HeLa через 7 суток, могут быть связаны с окислительным стрессом и митохондриальной дисфункцией, как предполагается в работах [19, 20] при воздействии низкочастотных магнитных полей. Отсроченный характер летального эффекта, согласно гипотезе, может объясняться тем, что накопление активных форм кислорода в опухолевых клетках достигает критического уровня с задержкой вследствие изначально нарушенного редокс-статуса [3]. Однако для прямого подтверждения роли окислительного стресса, митохондриальной дисфункции, апоптоза или других механизмов в реализации наблюдаемого эффекта необходимы дополнительные исследования.

Механизмы действия магнитных полей на клетки рассматриваются в литературе на разных уровнях функционирования [21, 22]. Полученные в настоящей работе морфологические данные: гипертрофия ядер и самих опухолевых клеток при воздействии однополярным полем в течение 5 мин на фоне низкой жизнеспособности (ИЖ = 2 %) – не противоречат гипотезе о разделении биосинтетических и митотических процессов, однако для проверки этого механизма необходимы дополнительные исследования с использованием соответствующих молекулярно-биологических методов.

Таким образом, среди всех изученных режимов наибольшие различия в жизнеспособности между HeLa и фибробластами показал режим биполярного импульсного поля со временем экспозиции 5 мин. Наряду с резким снижением жизнеспособности HeLa наблюдается сохранение функционально активного морфотипа нормальных фибробластов. Полученный результат в рамках рабочей гипотезы может указывать на возможность подбора

параметров для дифференцированного воздействия на изученные клеточные линии *in vitro*, однако данное предположение требует проверки *in vivo*.

Ограничения исследования. Основным ограничением данной работы является малое количество независимых повторностей при оценке ИЖ, в связи с чем эти данные следует рассматривать как предварительные, требующие подтверждения на увеличенной выборке. Морфометрические данные (табл. 2, рис. 6 и 7) позволяют выдвинуть гипотезу об избирательности воздействия. В работе не изучались молекулярные механизмы (апоптоз, аутофагия, окислительный стресс). Полученные результаты не следует напрямую экстраполировать на клинический сценарий; требуются исследования на других линиях опухолевых клеток и последующей валидации *in vivo*. Следует отметить, что выводы сделаны на основе двух клеточных линий; однако в настоящее время авторами проводятся исследования с привлечением дополнительных линий нормальных и опухолевых клеток для проверки воспроизводимости эффекта.

Выводы

1. Разработанный и проверенный в работе портативный лабораторный стенд позволяет воспроизводимо генерировать магнитные поля с регулируемыми параметрами (индукция до 35 мТл, частота до 10 Гц, однополярные и биполярные прямоугольные импульсы) и пригоден для проведения экспериментов *in vitro* в стандартных лабораторных условиях (включая размещение в ламинарном боксе).
2. В результате анализа проведенного исследования получены предварительные данные о различии жизнеспособности клеток HeLa и фибробластов в изученном диапазоне параметров (биполярное импульсное поле, экспозиция 5 мин, индукция 35 мТл). По предварительным данным ($n = 3$), ИЖ HeLa на 7-е сутки составил 1 %, тогда как жизнеспособность фибробластов сохранялась на уровне 89 %. В связи с крайне низкой выживаемостью линии HeLa морфометрический анализ для этой группы не проводился. Однако морфометрическое исследование фибробластов ($n = 3$ биологических повтора, $p < 0,05$) подтвердило сохранение их функционально активного фенотипа при данном режиме. Увеличение экспозиции до 10 мин приводит к снижению жизнеспособности фибробластов (ИЖ = 16 %) и устраняет наблюдаемое различие между двумя линиями в данном режиме. Полученные результаты позволяют сформулировать гипотезу о различии в действии биполярного импульсного поля на жизнеспособность клеток HeLa и дермальных фибробластов. Данный результат ограничен использованием только двух линий (HeLa и HDF) и требует подтверждения в расширенных исследованиях с большим числом повторений на других клеточных моделях.

3. Полученные результаты определяют диапазон параметров (биполярный режим, частота следования ≤ 10 Гц, индукция до 35 мТл, экспозиция 5 мин), представляющий интерес для дальнейшего исследования *in vivo*, включающих увеличение выборки, тестирование на других опухолевых линиях, а также экспериментальную верификацию гипотез о возможной роли окислительного стресса, митохондриальной дисфункции, апоптоза в реализации наблюдаемого отсроченного эффекта. Переход к исследованиям *in vivo* возможен только после подтверждения воспроизводимости и различий в эффекте на расширенной панели клеточных моделей *in vitro*.

Таким образом, в настоящей работе продемонстрирована принципиальная работоспособность лабораторного стенда как инструмента для изучения биологических эффектов импульсных магнитных полей. Показано, что предварительно выявленные различия в жизнеспособности клеток HeLa и фибробластов в отдельных режимах на двух использованных линиях создают аппаратно-методическую основу для последующих исследований с расширенной панелью клеточных линий.

Список литературы

1. Vadalà M., Morales-Medina J. C., Vallelunga A., Palmieri B., Laurino C., Iannitti T. Mechanisms and Therapeutic Effectiveness of Pulsed Electromagnetic Field Therapy in Oncology // Cancer Medicine. 2016. Vol. 5. Is. 11. P. 3128–3139. DOI: 10.1002/cam4.861.
2. Obrador E., Jihad-Jebbar A., Salvador-Palmer R., López-Blanch R., Oriol-Caballo M., Moreno-Murciano M. P., Navarro E. A., Cibrian R., Estrela J. M. Externally Applied Electromagnetic Fields and Hyperthermia Irreversibly Damage Cancer Cells // Cancers. 2023. Vol. 15. Is. 13. P. 3413. DOI: 10.3390/cancers15133413.
3. Ashdown C. P., Johns S. C., Aminov E., Unanian M., Connacher W., Friend J., Fuster M. M. Pulsed Low-Frequency Magnetic Fields Induce Tumor Membrane Disruption and Altered Cell Viability // Biophysical Journal. 2020. Vol. 118. Is. 7. P. 1552–1563. DOI: 10.1016/j.bpj.2020.02.013.
4. Sun J., Tong Y., Jia Y., Jia X., Wang H., Chen Y., Wu J., Jin W., Ma Z., Cao K., Li X., Chen Z., Yang G. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on the tumor cell inhibition and the possible mechanism // Scientific Reports. 2023. Vol. 13. Is. 1. P. 6989. DOI: 10.1038/s41598-023-34144-5.
5. Yamaguchi S., Ogiue-Ikeda M., Sekino M., Ueno S. Effects of Pulsed Magnetic Stimulation on Tumor Development and Immune Functions in Mice // Bioelectromagnetics. 2006. Vol. 27. Is. 1. P. 64–72. DOI: 10.1002/bem.20177.

6. Mi Y., Dai L., Xu N., Zheng W., Ma C., Chen W., Zhang Q. Viability inhibition of A375 melanoma cells *in vitro* by a high-frequency nanosecond-pulsed magnetic field combined with targeted iron oxide nanoparticles via membrane magnetoporation // *Nanotechnology*. 2021. Vol. 32. Is. 38. DOI: 10.1088/1361-6528/ac0caf.
7. Tekam C. K. S., Kumari P., Sahi A. K., Gundu S., Mahto S. K. Effects of 50 Hz extremely low-frequency magnetic field exposure on proliferative activity in cancer cells: an *in vitro* study // *Radiation Protection Dosimetry*. 2025. Vol. 201. Is. 16. P. 1108–1124. DOI: 10.1093/rpd/ncf099.
8. López de Mingo I., Rivera González M. X., Ramos Gómez M., Maestú Unturbe C. The Frequency of a Magnetic Field Reduces the Viability and Proliferation of Numerous Tumor Cell Lines // *Biomolecules*. 2025. Vol. 15. Is. 4. P. 503. DOI: 10.3390/biom15040503.
9. Патент № 2653628 C1 Российская Федерация, МПК A61N 2/00. Стационарное устройство для воздействия низкочастотным магнитным полем на медико-биологические объекты, система управления и формирования импульсов, индуктор магнитного поля и система механического привода стационарного устройства: № 2017120087: заявл. 30.05.2017: опубл. 11.05.2018 / Волобуев А. П., Волобуев П. В., Новоселов В. П., Пестов К. Н., Хохлов К. О., Усков Е. Д. [Электронный ресурс]. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2653628C1/ru> (дата обращения: 04.03.2026).
10. Волобуев А. П., Донник И. М. Магнитотерапия при опухолях молочных желез у собак // *Ветеринария*. 2007. № 1. С. 53–56. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=9430407> (дата обращения: 24.06.2026). EDN: HYJNBP.
11. Усков Е. Д., Хохлов К. О., Волобуев А. П., Школа Н. Ф., Дерстуганов А. Ю. Магнитотерапевтическая установка для воздействия на клетки злокачественных опухолей // *Биомедицинская радиоэлектроника*. 2011. № 9. С. 80–85. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=17095831> (дата обращения: 17.06.2026). EDN: OKCUXP.
12. ГОСТ Р ИСО 20391-1-2023. Биотехнология. Подсчет клеток. Ч. 1. Общее руководство по методам подсчета клеток. Введ. 2024-03-01. М.: Российский институт стандартизации, 2023. 30 с.
13. Liu Y., Tang Q., Tao Q., Dong H., Shi Z., Zhou L. Low-frequency magnetic field therapy for glioblastoma: Current advances, mechanisms, challenges and future perspectives // *Journal of Advanced Research*. 2025. Vol. 69. P. 531–543. DOI: 10.1016/j.jare.2024.03.024.
14. Pantelis P., Theocharous G., Veroutis D., Vagena I. A., Polyzou A., Thanos D. F., Kyrodimos E., Kotsinas A., Evangelou K., Lagopati N., Gorgoulis V. G., Kotopoulos N. Pulsed Electromagnetic Fields (PEMFs) Trigger Cell Death and Senescence in Cancer Cells // *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25. Is. 5. P. 2473. DOI: 10.3390/ijms25052473.

15. De Mingo I. Identification of extremely low frequency electromagnetic field exposure parameter-dependent bioactive windows in tumor and non-tumor cell models: Doctoral thesis. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, 2025. DOI: 10.20868/upm.thesis.88825.
16. Yuan L. Q., Wang C., Lu D. F., Zhao X. D., Tan L. H., Chen X. Induction of apoptosis and ferroptosis by a tumor suppressing magnetic field through ROS-mediated DNA damage // *Aging* (Albany NY). 2020. Vol. 12. Is. 4. P. 3662–3681. DOI: 10.18632/aging.102836.
17. Bajtoš M., Dang N., Lopez de Mingo I., Keller J., Gurhan H., Janoušek L., Barnes F. The proliferation rates of HT-1080 human fibrosarcoma cells can be accelerated or inhibited by weak static and extremely low frequency magnetic fields // *Frontiers in Public Health*. 2025. Vol. 13. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/public-health/articles/10.3389/fpubh.2025.1535155/full> (дата обращения: 04.03.2026). DOI: 10.3389/fpubh.2025.1535155.
18. Ravin R., Cai T. X., Li A., Briceno N., Pursley R. H., Garmendia-Cedillos M., Pohida T., Wang H., Zhuang Z., Cui J., Morgan N. Y., Williamson N. H., Gilbert M. R., Basser P. J. Tumor Treating Fields delivered via electromagnetic induction have varied effects across glioma cell lines and electric field amplitudes // *Am J. Cancer Res*. 2024. Vol. 14. Is. 2. P. 562–584. DOI: 10.62347/NDII9862.
19. Ji X., Tian X., Feng S., Zhang L., Wang J., Guo R., Zhu Y., Yu X., Zhang Y., Du H., Zablotskii V., Zhang X. Intermittent F-actin perturbations by magnetic fields inhibit breast cancer metastasis // *Research*. 2023. Vol. 6. P. 0080. DOI: 10.34133/research.0080.
20. Helekar S. A., Hambarde S., Ijare O. B., Pichumani K., Baskin D. S., Sharpe M. A. Selective induction of rapid cytotoxic effect in glioblastoma cells by oscillating magnetic fields // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2021. Vol. 147. P. 3577–3589. DOI: 10.1007/s00432-021-03787-0.
21. Xu A., Wang Q., Lin T. Low-frequency magnetic fields (LF-MFs) inhibit proliferation by triggering apoptosis and altering cell cycle distribution in breast cancer cells // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. Is. 8. P. 2952. DOI: 10.3390/ijms21082952.
22. Xu Y., Wang Y., Yao A., Xu Z., Dou H., Shen S., Hou Y., Wang T. Low frequency magnetic fields induce autophagy-associated cell death in lung cancer through miR-486-mediated inhibition of Akt/mTOR signaling pathway // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. P. 11776. DOI: 10.1038/s41598-017-10407-w.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Financing: The research was performed without external funding.