

**КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ИЗМЕРЕНИЯ  
ПРОВОДИМОСТИ ТКАНЕЙ**

Ф.А. Пак

Научный руководитель: доцент, к.ф-м.н.. А.Н. Алейник

Национальный исследовательский Томский политехнический университет,

Россия, г.Томск, пр. Ленина, 30, 634050

E-mail: [fap1@tpu.ru](mailto:fap1@tpu.ru)

**CONTROL OF ELECTROPORATION EFFICIENCY BY MEASURING THE CONDUCTIVITY  
OF THE TISSUES**

F.A. Pak

Scientific Supervisor: Assoc. Prof., Dr.A.N. Aleinik

Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk, Lenin str., 30, 634050

E-mail: [fap1@tpu.ru](mailto:fap1@tpu.ru)

***Abstract.** The method for measuring the efficiency of the electroporation process for living tissue is offered. The method consists in measuring the conductivity of tissue before and after the electroporation process. The measurements confirmed the efficiency of the method.*

**Введение.** Электропорация представляет собой процесс, при котором проницаемость мембраны клеток увеличивается при подаче на них коротких электрических импульсов. Этот эффект основывается на зарядении мембран клеток. Мембрана клетки служит для того, чтобы изолировать содержимое клетки. Внешняя мембрана клеток млекопитающих состоит из двойного слоя липидов толщиной примерно 5 нм. Интенсивные электрические поля влияют на перенос веществ через внешнюю мембрану.

Известно, что мембрана клетки имеет определённое сопротивление  $R$  электрическому току  $I$ , которое остаётся постоянным при разности потенциалов  $\Delta\phi$  между двумя сторонами мембраны [1]. Т.е. для мембраны сохраняется закон Ома:  $I = \phi/R$ . Закон соблюдается при разности потенциалов не выше 300 мВ. При разности потенциалов выше 300 мВ, ток резко увеличивается, что приводит к возникновению дефектов в мембране клетки. Это явление называется электрическим пробоем или электропорацией. При удалении разности потенциалов на мембране происходит уменьшение размеров пор. Связано это с тем, что на мембране, при образовании дефекта, увеличивается площадь раздела фаз “липид-вода”, что приводит к увеличению силы поверхностного натяжения воды на границе раздела фаз [2].

В нормальных условиях под действием сил натяжения мембрана клетки «затягивается», размеры пор уменьшаются, и мембрана восстанавливается. Но при увеличении разности потенциалов, после преодоления энергетического барьера, образование пор становится самопроизвольным, что приводит к разрушению клетки. Для моделирования прохождения электрического тока через мембрану клетки, клетка представляется в виде эквивалентной электрической цепи. Цитоплазма клетки в эквивалентной цепи представляется в виде резистора с сопротивлением  $R_c = 100 \text{ Ом} \cdot \text{см}$ . Мембрану клетки можно представить в виде конденсатора, ёмкость  $C_m$  которого равна  $10^{-6} \text{ Ф/см}$  и сопротивлением около  $1000 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$ . Так как клетка находится в среде, то среду клетки можно представить в виде суспензии описываемой сопротивлением  $R_s$  ёмкостью  $C_s$ . Эти величины линейно зависят от сопротивления среды  $\rho$

и диэлектрической постоянной  $\epsilon$  соответственно. Также представим каналы мембраны в виде управляемых проводников с проводимостью  $G_i$  ( $i=1,2,3\dots$ ), соединённых последовательно с источниками тока  $U_i$  ( $i=1,2,3\dots$ ). Тогда эквивалентную цепь для мембраны клетки можно представить в следующем виде.

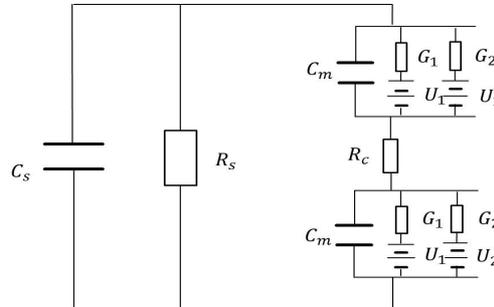


Рис. 1. Эквивалентная схема клетки в растворе,  $C_s$ ,  $R_s$ -сопротивление и ёмкость раствора,  $C_m$ -ёмкость мембраны,  $G_i$  и  $U_i$ - проводники и источники напряжения управляемых каналов мембраны.

**Экспериментальная часть.** Увеличение проницаемости может быть постоянным (необратимое) или временным (обратимое) в зависимости от параметров электрических импульсов. Оба вида применяются в медицинских приложениях. Обратимая электропорация в настоящее время широко используется для введения или удаления макромолекул из отдельных клеток. В течение двух последних десятилетий обратимая электропорация стала применяться при работе с живыми тканями для геной инженерии и доставки лекарств. Эффективность электропорации *in vivo* зависит от многих факторов [3]. Измерение пассивных электрических параметров для контроля эффективности электропорации для индивидуальных клеток и клеточных структур проведено в работе [4,5]. В настоящей работе показана возможность контроля эффективности электропорации в живых тканях путем измерения их проводимости.

На кафедре ПФ ФТИ ТПУ был создан макет прибора для электропорации. Блок-схема прибора показана на рис.2

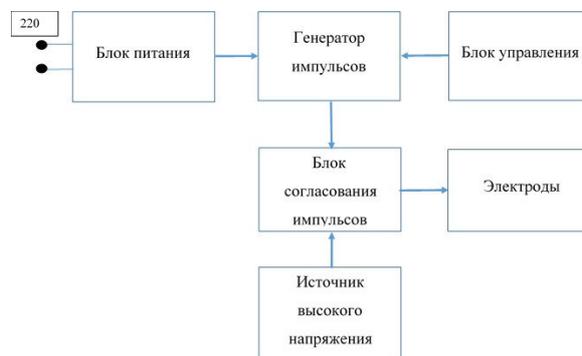


Рис. 2. Блок схема прибора для электропорации

Прибор питается от сети. Управляющим элементом является микроконтроллер ATmega 16, который определяет длительность и количество подаваемых импульсов. Усиленные импульсы через

схему согласования подаются на электроды. Длительность импульсов меняется в пределах 10 – 100 мксек, а их количество от 1 до 15. Для измерения проводимости тканей во время подачи импульсов была выбрана следующая схема. В цепь электрода последовательно включалось небольшое сопротивление, которое служило для измерения тока. Подаваемое на электроды напряжение для измерения снижалось с помощью делителя. Оба сигнала подавались на два входа осциллографа, в результате чего происходило одновременное измерение импульсных значений тока и напряжения. Из этих величин рассчитывалось измеренное значение проводимости ткани.

**Результаты.** Изменение проводимости ткани во времени после электропорации показано на рисунке 3. Это измерение проводилось с помощью анализатора импеданса.

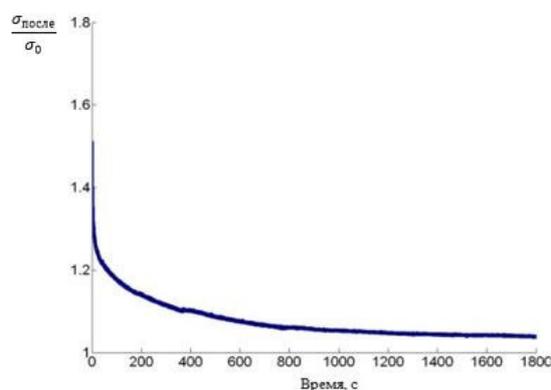


Рис.3. Изменение проводимости ткани во времени после подачи импульсов.

Величина относительной проводимости измерялась в течение 30 минут после подачи импульсов. Как видно из рисунка проводимость вначале резко падает. Затем скорость спада уменьшается и после 30 минут достигает начального значения, т.е. до подачи импульсов. Данный результат показывает, что мембраны клеток не повредились, т.е. произошло обратимое восстановление свойств мембран. Таким образом, предложенный метод позволяет оценить правильность выбора электрических параметров электропорации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cima L. F., Mir L.M. Macroscopic characterization of cell electroporation in biological tissue based on electrical measurements. // Appl. Phys. Lett. –2004 –№85– 520–522.
2. DeBruin K. A, Krassowska W. Modeling electroporation in a single cell: I. Effects of field strength and rest potential // Biophys. J. – 1999 –№ 77 –213–224.
3. Cegovnik U., Novakovic S. Setting optimal parameters for in vitro electrotransfection of B16F1 SA1 LPB and CHO cells using predefined exponentially decaying electric pulses // Bioelectrochemistry –2004 –№62 - 73–82.
4. Huang Y, Rubinsky B. Micro-electroporation: improving the efficiency and understanding of electrical permeabilization of cells // Biomed. Microdevices –1999– №2 –145–150.
5. Glahder J., Norrild B., Persson M. B. and Persson B. R. Transfection of HeLa-cells with pEGFP plasmid by impedance power-assisted electroporation // Biotechnol. Bioeng. – 2005– № 92 – 267–276.