

## ВЛИЯНИЕ ГЕЛИЕВОЙ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА КРОВИ КРЫС

**Мартусевич Андрей Кимович**, доктор биологических наук, рук. лаб. медицинской биофизики  
Университетской клиники

**Соловьева Анна Геннадьевна**, кандидат биологических наук, рук. отд. экспериментальной  
медицины с виварием Университетской клиники

**Краснова Светлана Юрьевна**, младший научный сотрудник. лаб. медицинской биофизики Уни-  
верситетской клиники

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России  
603155, г. Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18; тел.: (831) 436-25-31; e-mail: cryst-  
mart@yandex.ru

**Ключевые слова:** холодная гелиевая плазма, кровь, окислительный метаболизм

Целью исследования стало изучение особенностей модификации окислительного метаболизма крови крыс при действии гелиевой холодной плазмы. Эксперимент был выполнен на 20 половозрелых крысах-самцах линии Вистар (масса тела – 250-300 г), разделенных на две равные по численности группы. Первая группа животных (n=10) была контрольной (интактной), с ее представителями не производили никаких манипуляций, кроме однократного получения образцов крови. Крысам второй группы (n=10) на протяжении 10 дней ежедневно обрабатывали предварительно эпилированный участок кожи спины (площадь – 10 % поверхности тела) потоком гелиевой холодной плазмы. Получение холодной плазмы производили с помощью специальной установки, использующей принцип СВЧ-индуцированной ионизации газового потока и разработанной в Институте прикладной физики РАН (г. Нижний Новгород). В качестве газа-носителя плазмы использовали баллонный гелий марки А. В образцах крови крыс обеих сформированных групп изучали параметры окислительного метаболизма. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0. Проведенные эксперименты позволили установить, что накожное применение гелиевой холодной плазмы способствует повышению антиоксидантного потенциала плазмы крови и эритроцитов здоровых крыс. Данный эффект частично обеспечивается стимуляцией антиоксидантных энзимов, в том числе – супероксиддисмутазы.

### Введение

В последние десятилетия имеет место отчетливый интерес исследователей биомедицинского профиля к расширению возможностей холодной плазмы [1-8]. Холодная плазма с физических позиций представляет собой ионизированный газовый поток, охлажденный до температуры, близкой к температуре тела теплокровных животных и человека [1, 6, 8, 9, 10]. С другой стороны, в отношении выяснения биологических эффектов холодной плазмы присутствует значительное количество нераскрытых аспектов. В частности, абсолютным большинством специалистов применяется и изучается так называемая атмосферная холодная плазма [6, 8-14], полученная из атмосферного воздуха при нормальном давлении. Многокомпонентность исходного газового потока и невозможность его стандартизации обуславливают необходимость поиска альтернативных вариантов, одним из которых является монокомпонентная плазма, образующаяся при ионизации инертных газов высокой степени очистки (например, аргона или гелия) [4, 15-17]. В то же время рабо-

ты по изучению действия подобной плазмы на биологические объекты единичны и в большей степени касаются аргоновой плазмы [3, 4, 6].

В наших предшествующих исследованиях было показано, что гелиевая холодная плазма обладает рядом специфических метаболических эффектов в отношении крови человека при обработке *in vitro* [15]. Сведений о характере влияния рассматриваемого фактора на организм животного в литературе не представлено.

В связи с этим целью данного исследования стало изучение особенностей модификации окислительного метаболизма крови крыс при действии гелиевой холодной плазмы.

### Объекты и методы исследований

Эксперимент был выполнен на 20 половозрелых крысах-самцах линии Вистар (масса тела – 250-300 г), разделенных на две равные по численности группы. Первая группа животных (n=10) была контрольной (интактной), с ее представителями не производили никаких манипуляций, кроме однократного получения образцов крови. Крысам второй группы (n=10) на протяжении 10 дней ежедневно обрабатывали

предварительно эпилированный участок кожи спины (площадь – 10 % поверхности тела) потоком гелиевой холодной плазмы. Продолжительность каждой процедуры составляла 1 мин. Расстояние от края «плазменного факела» равнялось 1,0-1,5 см.

Получение холодной плазмы производили с помощью специальной установки, использующей принцип СВЧ-индуцированной ионизации газового потока и разработанной в Институте прикладной физики РАН (г. Нижний Новгород). В качестве газа-носителя плазмы использовали баллонный гелий марки А.

По завершении полного курса процедур у животных второй (основной) группы получали образцы крови для дальнейшего исследования.

В образцах крови крыс обеих сформированных групп изучали параметры окислитель-

ного метаболизма. Так, в плазме крови методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции определяли светосумму хемилюминесценции, рассматриваемую как критерий интенсивности перекисного окисления липидов, а также показатель  $tg2\alpha$ , отражающий общую антиоксидантную активность [15]. В эритроцитах оценивали их перекисную резистентность, изучаемую аналогично светосумме хемилюминесценции плазмы. Кроме того, в данных форменных элементах определяли активность супероксиддисмутазы по методу Т.В. Сироты (1999). Концентрацию белка для вычисления удельной активности фермента исследовали модифицированным методом Лоури.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

### Результаты исследований

Анализ интенсивности свободнорадикальных процессов в плазме крови крыс сформированных групп позволил установить (рис. 1), что под влиянием холодной гелиевой плазмы имеет место отчетливая стимуляция перекисного окисления липидов в биологической жидкости. Так, у представителей основной группы параметр увеличивался на 17,9 % по сравнению с уровнем, характерным для интактных животных ( $p < 0,05$ ).

С учетом того, что окислительный метаболизм является результирующей взаимодействия про- и антиоксидантных систем, показанный выше «прооксидантный» эффект рассматриваемого фактора необходимо было верифицировать по характеру влияния на общую антиоксидантную активность плазмы крови. На основании этих исследований обнаружено, что изучаемое воздействие способствует резкому повышению антиоксидантного потенциала биосреды крыс (рис. 2), увеличивая соответствующий показатель на 146,8 % относительно здоровых интактных крыс ( $p < 0,01$ ). Это позволяет зафиксировать преимущественно антиоксидантное действие гелиевой холодной плазмы на окислительные процессы в плазме крови крыс.

В рамках второй части исследования с помощью биохемилюми-

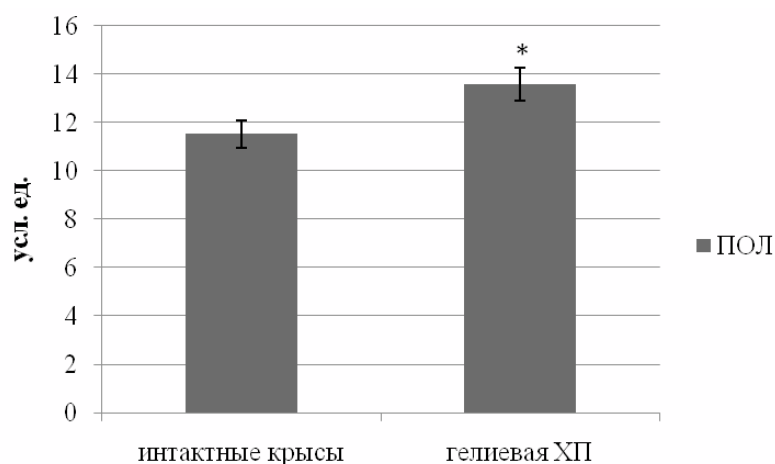


Рис. 1 - Влияние гелиевой холодной плазмы на интенсивность липопероксидации в плазме крови крыс («\*» - статистическая значимость межгрупповых различий  $p < 0,05$ )

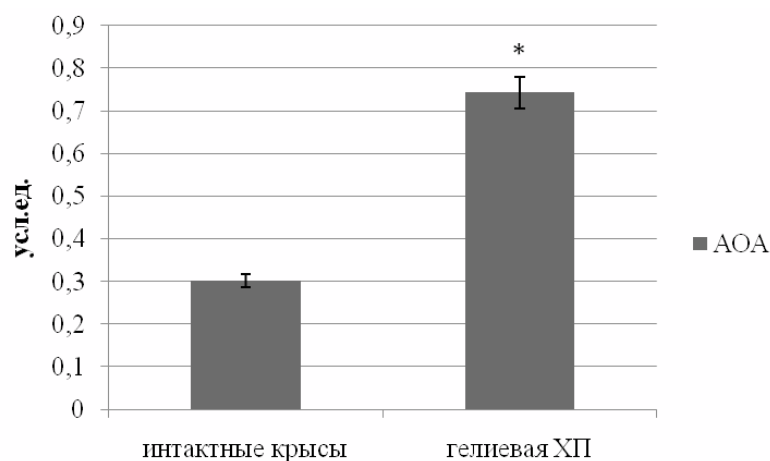
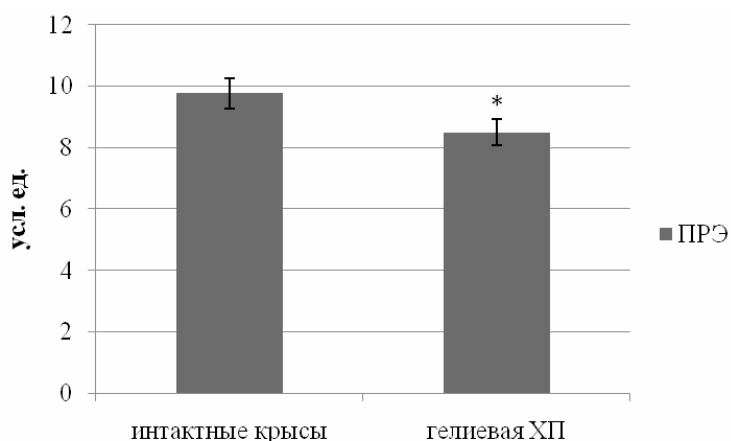


Рис. 2 - Общая антиоксидантная активность плазмы при действии гелиевой холодной плазмы («\*» - статистическая значимость межгрупповых различий  $p < 0,05$ )

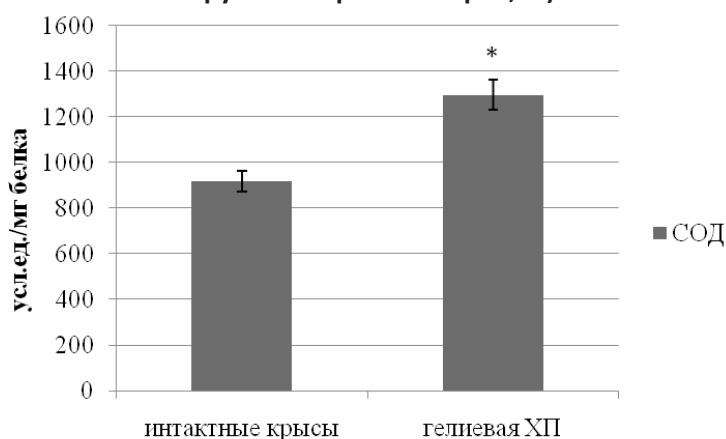
несцентных и спектрофотометрических подходов была произведена оценка влияния холодной плазмы на окислительный метаболизм эритроцитов (рис. 3 и 4). Выявлено, что у животных основной группы имело место умеренное снижение перекисной резистентности эритроцитов (рис. 3), что трактуется нами как небольшая стимуляция процесса свободнорадикального окисления в мембранах эритроцитов. Следует отметить, что приведенные сдвиги уровня параметра (-15 % по сравнению с интактными животными) статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

Состояние антиоксидантной системы эритроцитов оценивалось нами по каталитической активности одного из основных антиоксидантных ферментов, утилизирующего супероксид-анион радикал, - супероксиддисмутазы (рис. 4). Установлено, что при рассматриваемом воздействии темпы нарастания ее удельной активности существенно превышают градиент прироста интенсивности перекисного окисления липидов (+41,3 %;  $p < 0,05$ ). Это указывает на преимущественно антиоксидантное действие холодной плазмы и на состояние эритроцитов.

Наиболее широко обсуждаемым молекулярно-клеточным эффектом холодной плазмы различного состава является ее антибактериальная активность [4-6, 8, 9, 11-14]. В то же время метаболическое действие фактора, в том числе его влияние на окислительный метаболизм, выступающий в качестве одной из потенциальных мишеней холодной плазмы в биосистемах, изучено достаточно слабо. В наших предшествующих исследованиях, проведенных на изолированных образцах крови человека, которые обрабатывали потоком гелиевой плазмы в условиях *in vitro*, были впервые продемонстрированы антиоксидантные эффекты воздействия [15]. С этих позиций представляются логичными результаты настоящей работы, свидетельствующие о выраженном антиоксидантном действии холодной плазмы на окислительные процессы как в плазме крови, так и в эритроцитах. Установленный эффект, по нашему мнению, следует признать проадапативным. Это может быть полезно при коррекции состояний, сопряженных с накоплением в биологических средах повышенных кон-



**Рис. 3 - Влияние гелиевой холодной плазмы на перекисную резистентность эритроцитов («\*» - статистическая значимость межгрупповых различий  $p < 0,05$ )**



**Рис. 4 - Изменение активности супероксиддисмутазы эритроцитов при действии гелиевой холодной плазмы («\*» - статистическая значимость межгрупповых различий  $p < 0,05$ )**

центраций неутилизированных свободных радикалов, что трактуется в настоящее время как проявление окислительного (оксидативного) стресса [18].

С другой стороны, в отношении действия холодной гелиевой плазмы на биосистемы остается много нераскрытых аспектов. В их числе – уточнение влияния изучаемого фактора на иные метаболические пути. Кроме того, не до конца понятен механизм системного эффекта холодной плазмы при наружном применении. В этой связи целесообразно продолжение исследований в области плазменной медицины.

#### Выводы

Проведенные эксперименты позволили установить, что кожное применение гелиевой холодной плазмы способствует повышению антиоксидантного потенциала плазмы крови и эритроцитов здоровых крыс. Данный эффект частично обеспечивается стимуляцией антиок-

сидантных энзимов, в том числе – супероксид-дисмутазы. Это создает предпосылки для изучения рассматриваемого воздействия как способа коррекции патологических состояний, ассоциированных с формированием явлений окислительного стресса.

#### Библиографический список

1. Алейник, А.Н. Плазменная медицина / А.Н. Алейник. - Томск: Изд-во ТПУ, 2011. - 45 с.

2. Мартусевич, А.К. Исследование некоторых продуктов, генерируемых медицинским аппаратом для получения **НО-содержащей холодной плазмы** / А.К. Мартусевич, С.П. Перетягин, А.Ф. Ванин // Медицинская физика. - 2012. - №4. - С. 80 - 86.

3. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue / D. Dobrynin, D. Fridman, G. Friedman, A. Fridman // New J. Phys. - 2009. - Vol. 11. - P. 1 – 26.

4. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds / S.A. Ermolaeva, A.F. Varfolomeev, M.Yu. Chernukha [et al.] // J. Med. Microbiol. - 2011. - Vol. 60. - P. 75 – 83.

5. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma / P.B. Flynn, A. Busetti, E. Wielogorska [et al.] // Sci. Rep. - 2016. - Vol. 6. - P. 26320.

6. Hoffmann, C. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology / C. Hoffmann, C. Berganza, J. Zhang // Medical Gas Research. - 2013. - Vol. 3. - P. 21.

7. Lotfy, K. Cold atmospheric plasma and oxidative stress: reactive oxygen species vs. antioxidant / K. Lotfy // Austin Biochem. - 2016. - Vol. 1, № 1. – P. 1001.

8. Nonthermal plasma - A tool for decontamination and disinfection / V. Scholtz [et al.] // Biotechnol. Adv. - 2015. - Vol. 33, N 6. - P. 1108 - 1119.

9. Stoffels, E. Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues / E. Stoffels, Y. Sakiyama, D.B. Graves

// IEEE Trans. Plasma Sci. - 2008. - Vol. 36. - P. 1441 - 1457.

10. Laroussi, M. Low-temperature plasmas for medicine? / M. Laroussi // IEEE Trans. Plasma Sci. - 2009. - Vol. 37. - P. 714 - 725.

11. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma / M.Y. Alkawareek, S.P. Gorman, W.G. Graham, B.F. Gilmore // Int J. Antimicrob. Agents. - 2014. - Vol. 43. - P. 154 – 160.

12. Eradication and phenotypic tolerance of Burkholderia cenocepacia biofilms exposed to atmospheric pressure non-thermal plasma / N.H. Alshraideh, S. Higginbotham, P.B. Flynn [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. - 2016. - Vol. 47. - P. 446 - 450.

13. Plasma medicine: an introductory review / M.G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill [et al.] // New J. Phys. - 2009. - Vol. 11. - P. 115012.

14. Dose- and time-dependent cellular effects of cold atmospheric pressure plasma evaluated in 3D skin models / C. Wiegand, S. Fink, O. Beier [et al.] // Skin Pharmacol. Physiol. - 2016. - Vol. 29. - P. 257 - 265.

15. Влияние гелиевой холодной плазмы на параметры окислительного метаболизма крови in vitro / А.К. Мартусевич, А.Г. Соловьева, Д.В. Янин, А.Г. Галка, С.Ю. Краснова // Вестник новых медицинских технологий. – 2017. – Том 24, №3. – С. 163 - 166.

16. Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells / P. Brun, S. Pathak, I. Castagliuolo [et al.] // Plos ONE. - 2014. - Vol. 9, № 8. - e104397.

17. Helium-based cold atmospheric plasma-induced reactive oxygen species-mediated apoptotic pathway attenuated by platinum nanoparticles / P. Jawaid, M.U. Rehman, Q.L. Zhao [et al.] // J. Cell. Mol. Med. - 2016. - Vol. 20, № 9. - P. 1737 - 1748.

18. Мартусевич, А.К. Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии / А.К. Мартусевич, К.А. Карузин // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2015. – Том 2, № 2. – С. 5 - 18.

## INFLUENCE OF HELIUM COLD PLASMA ON THE STATE OF OXIDATIVE METABOLISM OF RAT BLOOD

Martusevich A.K., Solovieva A.G., Krasnova S. Yu.

FSBEI HE "Volga Research Medical University" of the Ministry of Health of Russia

603155, Nizhny Novgorod, Verkhne-Volzhskaya emb., 18; Tel. (831) 436-25-31, e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Key words: cold helium plasma, blood, oxidative metabolism

The purpose of the research was to study the modification of oxidative metabolism of rat blood under the influence of helium cold plasma. The experiment was performed on 20 mature male rats of the Wistar line (body weight 250-300 g), divided into two equal groups. The first group of animals (n = 10) was control (intact), representatives of this group were not manipulated on, except a single blood sampling. Rats of the second group (n = 10) were daily treated with a flow of helium cold plasma on the previously epilated area on of the back (area - 10% of the body surface) for 10 days. The production of cold plasma was carried out with a special installation, using the principle of microwave-induced ionization of the gas stream and developed at the Institute of Applied Physics

of the Russian Academy of Sciences (Nizhny Novgorod). As a gas carrier of plasma was used balloon helium of grade A. Parameters of oxidative metabolism were studied in rat blood samples of both groups. Statistics analysis of the results was conducted with application of Statistica 6.0 program. The following experiments made it possible to establish that the dermal application of helium cold plasma promotes an increase in the antioxidant potential of blood plasma and erythrocytes of healthy rats. This effect is partially provided by stimulation of antioxidant enzymes, including superoxide dismutase.

#### Bibliography

1. Aleinik, A.N. Plasma medicine / A.N. Aleinik. - Tomsk: TPU Publishing House, 2011. - 45 p.
2. Martusevich, A.K. Research of some products generated by a medical device for production of NO-containing cold plasma / A.K. Martusevich, S.P. Peretyagin, A.F. Vanin // *Medical Physics*. - 2012. - №4. - P. 80 - 86.
3. Dobrynin, D. Fridman, G. Friedman, A. Fridman // *New J. Phys.* - 2009. - Vol. 11. - P. 1 - 26.
4. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds / S.A. Ermolaeva, A.F. Varfolomeev, M.Yu. Chernukha [et al.] // *J. Med. Microbiol.* - 2011. - Vol. 60. - P. 75 - 83.
5. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of the atmospheric pressure non-thermal plasma / P.B. Flynn, A. Busetti, E. Wielogorska [et al.] // *Sci. Rep.* - 2016. - Vol. 6. - P. 26320.
6. Hoffmann, C. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology / C. Hoffmann, C. Berganza, J. Zhang // *Medical Gas Research*. - 2013. - Vol. 3. - P. 21.
7. Lotfy, K. Cold atmospheric plasma and oxidative stress: reactive oxygen species. antioxidant / K. Lotfy // *Austin Biochem.* - 2016. - Vol. 1, No. 1. - P. 1001.
8. Nonthermal plasma - A tool for decontamination and disinfection / V. Scholtz [et al.] // *Biotechnol. Adv.* - 2015. - Vol. 33, No. 6. - P. 1108-1119.
9. Stoffels, E. Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues / E. Stoffels, Y. Sakiyama, D.B. Graves // *IEEE Trans. Plasma Sci.* - 2008. - Vol. 36. - P. 1441-1457.
10. Laroussi, M. Low-temperature plasmas for medicine? / M. Laroussi // *IEEE Trans. Plasma Sci.* - 2009. - Vol. 37. - P. 714-725.
11. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma / M.Y. Alkawareek, S.P. Gorman, W.G. Graham, B.F. Gilmore // *Int J. Antimicrob. Agents*. 2014. Vol. 43. - P. 154-160.
12. Eradication and phenotypic tolerance of *Burkholderia cenocepacia* biofilms exposed to atmospheric pressure non-thermal plasma / N.H. Alshraideh, S. Higginbotham, P.B. Flynn [et al.], *Int. J. Antimicrob. Agents*. - 2016. - Vol. 47. - P. 446 - 450.
13. Plasma medicine: an introductory review / M.G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill [et al.] // *New J. Phys.* - 2009. - Vol. 11. P. 115012.
14. Dose- and time-dependent cellular effects of cold atmospheric pressure plasma evaluated in 3D skin models / C. Wiegand, S. Fink, O. Beier [et al.] // *Skin Pharmacol. Physiol.* - 2016. - Vol. 29. - P. 257 - 265.
15. Effect of helium cold plasma on parameters of oxidative metabolism of blood in vitro / A.K. Martusevich, A.G. Solovieva, D.V. Yanin, A.G. Galka, S.Yu. Krasnova // *Vestnik of new medical technologies*. - 2017. - Volume 24, №3. - P. 163 - 166.
16. Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells / P. Brun, S. Pathak, I. Castagliuolo [et al.] // *Plos ONE*. - 2014. - Vol. 9, № 8. - e104397.
17. Helium-based cold atmospheric plasma-induced reactive oxygen species-mediated apoptotic pathway attenuated by platinum nanoparticles / P. Jawaid, M.U. Rehman, Q.L. Zhao [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* - 2016. - Vol. 20, № 9. - P. 1737 - 1748.
18. Martusevich, A.K. Oxidative stress and its role in formation of disadaptation and pathology / A.K. Martusevich, K.A. Karuzin // *Bioradicals and antioxidants*. - 2015. - Volume 2, No. 2. - P. 5 - 18.