

# ВЛИЯНИЕ ХОЛОДНОЙ ГЕЛИЕВОЙ ПЛАЗМЫ НА СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

## **А.К. Мартусевич**

д.б.н., руководитель лаборатории медицинской биофизики, Университетская клиника, Приволжский исследовательский медицинский университет;  
ученый секретарь, Ассоциация российских озонотерапевтов (г. Нижний Новгород, Россия)  
E-mail: [crist-mart@yandex.ru](mailto:crist-mart@yandex.ru)

## **А.Г. Галка**

к.ф.-м.н., науч.сотрудник, лаборатория медицинской биофизики, Университетская клиника, Приволжский исследовательский медицинский университет;  
науч. сотрудник, лаборатория моделирования космической плазмы, Институт прикладной физики РАН (г. Нижний Новгород, Россия)

## **Е.С. Голыгина**

лаборант-исследователь, лаборатория медицинской биофизики, Университетская клиника, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия)

## **С.Ю. Краснова**

мл. науч. сотрудник, лаборатория медицинской биофизики, Университетская клиника, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия)

## **К.Л. Беляева**

лаборант-исследователь, лаборатория медицинской биофизики, Университетская клиника, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия)

Целью работы явилось изучение влияния гелиевой холодной плазмы (пять ежедневных процедур по 1 мин) на окислительный метаболизм крови крыс с экспериментальной термической травмой. Эксперимент выполнен на 30 половозрелых крысах-самцах Вистар, разделенных на три равных по численности группы. Первая группа животных ( $n=10$ ) – интактная. Крысам второй и третьей групп ( $n=10$  в каждой) моделировали контактный термический ожог (площадь – 10% поверхности тела) по собственной методике, проводили местное лечение раны левомеколем. Животным третьей группы дополнительно проводили курс, включающий пять ежедневных процедур обработки ожоговой раны (1 мин), локализованной на коже спины, потоком гелиевой холодной плазмы. Расстояние от края «плазменного факела» до обрабатываемой поверхности равнялось 1,0–1,2 см. Холодную плазму получали с помощью специальной установки, использующей принцип СВЧ-индуцированной ионизации газового потока. В качестве газа-носителя плазмы использовали баллонный гелий марки А. Интенсивность перекисного окисления в плазме и мембранах эритроцитов исследовали методом Fe-индуцированной биохемиллюминесценции по светосумме последней. Анализ кривой биохемиллюминесценции позволял рассчитывать общую антиоксидантную активность плазмы крови. Установлено, что обработка экспериментальной ожоговой раны холодной гелиевой плазмой оказывает положительное влияние на метаболизм крови крыс, позволяя нивелировать проявления окислительного стресса и оказывая антиоксидантное действие. Выявлено, что данный эффект реализуется как в плазме крови, так и в мембранах эритроцитов.

**Ключевые слова:** холодная плазма, кровь, липопероксидация, термическая травма.

**Для цитирования:** Мартусевич А.К., Галка А.Г., Голыгина Е.С., Краснова С.Ю., Беляева К.Л. Влияние холодной гелиевой плазмы на состояние свободнорадикальных процессов в крови при экспериментальной термической травме. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(5):46–50. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-05-06>

Плазменная медицина – динамично развивающееся междисциплинарное направление, интегрирующее достижения физики, биологии и медицины и ориентированное на изучение влияния холодной плазмы на различные биологические объекты [4–9, 12].

В настоящее время акцент этих исследований смещен в сторону всестороннего рассмотрения и оценки возможностей применения антибактериального действия холодной плазмы [4, 6–8]. Последнее основано на генерации больших количеств биорадикалов, в том числе активных форм

кислорода, при обработке биообъектов данным физическим фактором в течение длительного времени (от 30 мин до нескольких часов) [9, 12].

Существенно менее изученным являются биологические эффекты коротких экспозиций действия холодной плазмы. В предшествующих исследованиях авторов показано, что ультракороткие (1–2 мин) режимы обработки биообъектов холодной гелиевой плазмой обладают принципиально иным влиянием на состояние биосистем. Так, в экспериментах *in vitro* установлено, что подобное воздействие оказывает антиоксидантный эффект [2], подтвержденный и при обработке животных холодной плазмой [3]. Следовательно, потенциально логичным представляется использование рассматриваемого физического фактора для коррекции состояний, сопряженных с окислительным стрессом. При этом требуется проверка данной гипотезы

**Ц е л ь р а б о т ы** – изучение влияния гелиевой холодной плазмы на окислительный метаболизм крови крыс с экспериментальной термической травмой.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 30 половозрелых крысах-самцах Вистар, разделенных на три группы.

Первая (контрольная) группа животных ( $n=10$ ) – интактная, с ними не проводили никаких манипуляций, кроме однократного получения образцов крови.

Вторая и третья группы ( $n=10$  в каждой) – крысам моделировали контактный термический ожог (площадь – 10% поверхности тела) по ранее описанному методу [1], проводили местное лечение раны левомеколем. Животным третьей группы дополнительно проводили курс, включавший пять ежедневных процедур обработки локализованной на коже спины ожоговой раны потоком гелиевой холодной плазмы. У животных второй и третьей групп на 6-е сутки после нанесения ожога брали образцы крови из хвостовой вены.

Холодную плазму получали с помощью специальной установки, использующей принцип СВЧ-индуцированной ионизации газового потока. Установка разработана в Институте прикладной физики РАН (г. Нижний Новгород) [2, 3]. В качестве газа-носителя плазмы использовали баллонный гелий марки А. Продолжительность каждой процедуры составляла 1 мин. Расстояние от края

«плазменного факела» до обрабатываемой поверхности равнялось 1,0–1,2 см.

Интенсивность перекисного окисления в плазме и мембранах эритроцитов исследовали на аппарате БХЛ-06 (г. Нижний Новгород, Россия) методом Fe-индуцированной биохемилуминесценции по светосумме последней и выражали в форме параметров «интенсивность липопероксидации» и «перекисная резистентность эритроцитов» соответственно [2, 3, 10, 11]. Кроме того, анализ кривой биохемилуминесценции позволял рассчитывать общую антиоксидантную активность плазмы крови [2, 3, 10].

Результаты обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Для оценки статистической значимости различий применяли  $H$ -критерий Краскала–Уоллеса. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p<0,05$ .

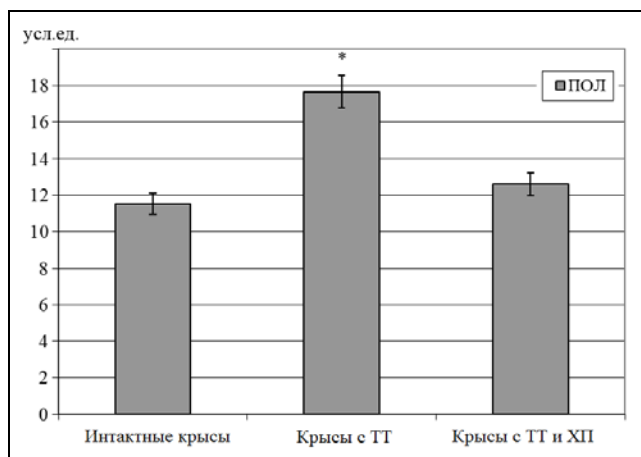
Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

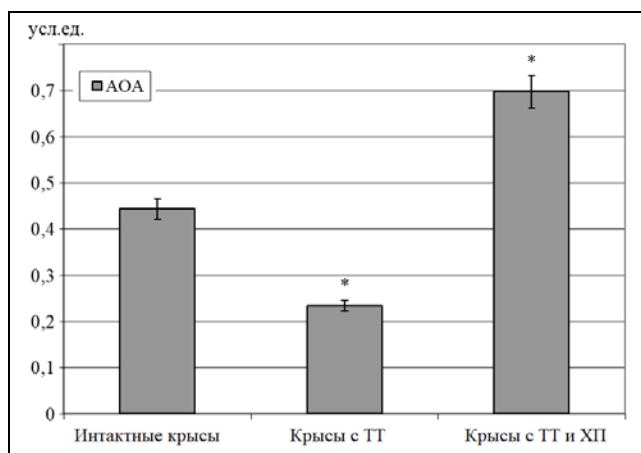
Проведенные исследования позволили установить, что у крыс, которым воспроизводили термическую травму, имеют место выраженные лабораторные признаки окислительного стресса (рис. 1–3).

Об этом свидетельствуют значительное повышение интенсивности перекисного окисления липидов (в 1,53 раза) и снижение общей антиоксидантной активности плазмы крови (в 1,90 раза), а также уменьшение перекисной резистентности эритроцитов (в 1,30 раза) у животных второй группы относительно интактных крыс ( $p<0,05$  для всех указанных параметров).

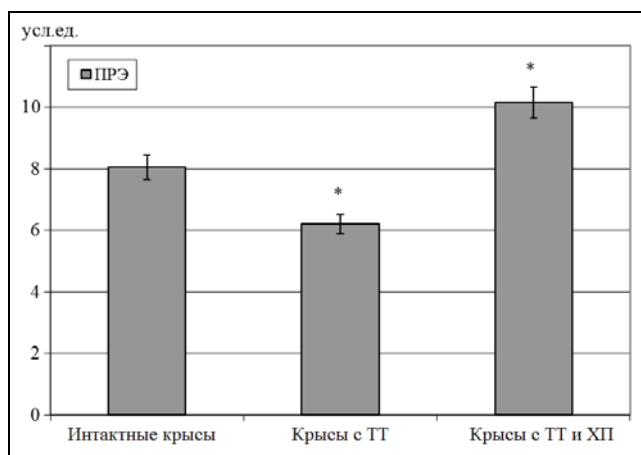
Напротив, курс наружной обработки крыс гелиевой холодной плазмой препятствовал формированию оксидативного стресса, на что указывает состояние окислительного метаболизма плазмы крови: сохранение интенсивности липопероксидации на 6-е сутки посттермического периода на уровне, характерном для здоровых животных, на фоне повышения антиоксидантного потенциала в 1,57 раза ( $p<0,05$ ). Кроме того, общая антиоксидантная активность плазмы животных третьей группы превосходит таковую у обожженных крыс, которым проводили только местное лечение, в 2,98 раза ( $p<0,05$ ).



**Рис. 1.** Интенсивность липопероксидации в плазме крови крыс сформированных групп (ТТ – термическая травма, ХП – холодная гелиевая плазма, \* – статистическая значимость различий с интактными животными  $p < 0,05$ )



**Рис. 2.** Общая антиоксидантная активность плазмы крови крыс сформированных групп (ТТ – термическая травма, ХП – холодная гелиевая плазма, \* – статистическая значимость различий с интактными животными  $p < 0,05$ )



**Рис. 3.** Peroxidation resistance of erythrocytes of rats from formed groups (ТТ – термическая травма, ХП – холодная гелиевая плазма, \* – статистическая значимость различий с интактными животными  $p < 0,05$ )

Аналогичная динамика зафиксирована и в отношении перекисной резистентности эритроцитов, возрастающей у крыс с термической травмой после курса обработки холодной плазмой в 1,26 раза относительно здоровых животных и в 1,64 раза – по сравнению с крысами, не получавшими дополнительного воздействия ( $p < 0,05$  для обоих случаев). Этот факт позволяет говорить об антиоксидантном эффекте гелиевой холодной плазмы.

## ВЫВОДЫ

Проведенные исследования продемонстрировали, что курсовая обработка экспериментальной ожоговой раны холодной гелиевой плазмой оказывает положительное влияние на метаболизм крови крыс, позволяя нивелировать проявления окислительного стресса и оказывая антиоксидантное действие. Выявлено, что данный эффект реализуется как в плазме крови, так и в мембранах эритроцитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Размахов А.М., Лузан А.С., Дмитриев А.Д. Некоторые физико-биохимические свойства биологических жидкостей крыс при модельной термической травме. Бюллетень экспериментальной медицины и биологии. 2009; 147 (4): 404–406.
2. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Краснова С.Ю., Янин Д.В., Галка А.Г., Костров А.В. Влияние гелиевой холодной плазмы на метаболические и физико-химические параметры крови человека *in vitro*. Биомедицина. 2018; 2: 47–58.
3. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Галка А.Г., Козлова Л.А., Янин Д.В. Влияние гелиевой холодной плазмы на метаболизм эритроцитов. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019; 167 (2): 144–146.
4. Alkawareek M.Y., Gorman S.P., Graham W.G., Gilmore B.F. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *Int J. Antimicrob. Agents*. 2014; 43: 154–160.
5. Brun P., Pathak S., Castagliuolo I. et al. Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells. *Plos ONE*. 2014; 9 (8): e104397.
6. Ermolaeva S.A., Varfolomeev A.F., Chernukha M.Yu. et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma *in vitro*, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J. Med. Microbiol*. 2011; 60: 75–83.
7. Flynn P.B., Buseti A., Wielogorska E. et al. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *Sci. Rep*. 2016; 6: 26320.
8. Hoffmann C., Berganza C., Zhang J. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical Gas Research*. 2013; 3: 21.
9. Jawaid P., Rehman M.U., Zhao Q.L. et al. Helium-based cold atmospheric plasma-induced reactive oxygen species-mediated apoptotic pathway attenuated by platinum. *J. Cell. Mol. Med*. 2016; 20 (9): 1737–1748.

10. *Martusevich A.K., Galka A.G., Karuzin K.A., Tuzhilkin A.N., Malinovskaya S.L.* Cold helium plasma as a modifier of free radical processes in the blood: *in vitro* study. *AIMS Biophysics*. 2021; 8 (1): 34–40.
11. *Popova T.N., Sukhoveeva O.V., Makeeva A.V. et al.* Synthesis and effect of biguanide derivatives on biochemiluminescence and level of reduced glutathione in rat blood serum and brain under ischemia-reperfusion conditions. *Pharm Chem J*. 2011; 45: 359–362.
12. *Wiegand C., Fink S., Beier O. et al.* Dose- and time-dependent cellular effects of cold atmospheric pressure plasma evaluated in 3D skin models. *Skin Pharmacol. Physiol*. 2016; 29: 257–265.

Поступила 19 января 2021 г.

## THE INFLUENCE OF COLD HELIUM PLASMA ON THE STATE OF FREE RADICAL PROCESSES UNDER EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

© Authors, 2021

### A.K. Martusevich

Dr.Sc. (Biol.), Head of Laboratory of Medical Biophysics, Privolzhsky Research Medical University; Scientific Secretary, Association of Russian Ozone Therapists (Nizhny Novgorod, Russia)  
E-mail: [cryst-mart@yandex.ru](mailto:cryst-mart@yandex.ru)

### A.G. Galka

Ph.D. (Phys.-Math.), Research Scientist, Privolzhsky Research Medical University; Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences Federal Research Center (Nizhny Novgorod, Russia)

### E.S. Golygina

Laboratory Assistant Researcher, Laboratory of Medical Biophysics, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia)

### S.Yu. Krasnova

Junior Research Scientist, Laboratory of Medical Biophysics, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia)

### K.L. Belyaeva

Laboratory Assistant Researcher, Laboratory of Medical Biophysics, Privolzhsky Research Medical University (Nizhny Novgorod, Russia)

The aim of the study was to estimate the effect of helium cold plasma (5 daily procedures of 1 min) on blood oxidative metabolism of rats with experimental thermal trauma. The experiment was performed on 30 male Wistar rats divided into 3 equal-sized groups. The first group of animals ( $n=10$ ) was intact. The rats of the second and third groups ( $n=10$  in each) were simulated contact thermal burn (area – 10% of the body surface) according to our own method, and local treatment of the wound with levomekol was performed. The animals of the third group were additionally treated with a course that included 5 daily procedures for treating a burn wound (1 min) localized on the skin of the back with a stream of cold helium plasma. The distance from the edge of the "plasma torch" to the treated surface was 1.0–1.2 cm. The cold plasma was produced using a special installation using the principle of microwave-induced ionization of the gas stream. Balloon helium of the A brand was used as the plasma carrier gas. The intensity of peroxidation in the plasma and membranes of red blood cells was studied by Fe-induced biochemiluminescence by the light sum of the latter. In addition, the analysis of the biochemiluminescence curve allowed us to calculate the total antioxidant activity of blood plasma. It was found that the course of treatment of an experimental burn wound with cold helium plasma has a positive effect on the blood metabolism of rats, allowing to neutralize the manifestations of oxidative stress and exerting an antioxidant effect. It was found that this effect is realized both in blood plasma and in red blood cell membranes.

**Key words:** cold plasma, blood, lipid peroxidation, thermal trauma.

**For citation:** Martusevich A.K., Galka A.G., Golygina E.S., Krasnova S.Yu., Belyaeva K.L. The influence of cold helium plasma on the state of free radical processes under experimental thermal trauma. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2021;24(5):46–50. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-05-06>

## REFERENCES

1. Vorob'ev A.V., Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Razmahov A.M., Luzan A.S., Dmitriev A.D. Nekotorye fiziko-biohimicheskie svoystva biologicheskikh zhidkostej krysa pri model'noj termicheskoj travme. *Bjulleten' jeksperimental'noj mediciny i biologii*. 2009; 147 (4): 404–406.
2. Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Krasnova S.Ju., Janin D.V., Galka A.G., Kostrov A.V. Vlijanie gelievoj holodnoj plazmy na metabolicheskie i fiziko-himicheskie parametry krovi cheloveka *in vitro*. *Biomedicina*. 2018; 2: 47–58.
3. Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Galka A.G., Kozlova L.A., Janin D.V. Vlijanie gelievoj holodnoj plazmy na metabolizm jeritrocytov. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2019; 167 (2): 144–146.

- Alkawareek M.Y., Gorman S.P., Graham W.G., Gilmore B.F. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *Int J. Antimicrob. Agents.* 2014; 43: 154–160.
- Brun P., Pathak S., Castagliuolo I. et al. Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells. *Plos ONE.* 2014; 9(8): e104397.
- Ermolaeva S.A., Varfolomeev A.F., Chernukha M.Yu. et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60: 75–83.
- Flynn P.B., Buseti A., Wielogorska E. et al. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26320.
- Hoffmann C., Berganza C., Zhang J. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical Gas Research.* 2013; 3: 21.
- Jawaid P., Rehman M.U., Zhao Q.L. et al. Helium-based cold atmospheric plasma-induced reactive oxygen species-mediated apoptotic pathway attenuated by platinum. *J. Cell. Mol. Med.* 2016; 20 (9): 1737–1748.
- Martusevich A.K., Galka A.G., Karuzin K.A., Tuzhilkin A.N., Malinovskaya S.L. Cold helium plasma as a modifier of free radical processes in the blood: in vitro study. *AIMS Biophysics.* 2021; 8 (1): 34–40.
- Popova T.N., Sukhoveeva O.V., Makeeva A.V. et al. Synthesis and effect of biguanide derivatives on biochemiluminescence and level of reduced glutathione in rat blood serum and brain under ischemia-reperfusion conditions. *Pharm Chem J.* 2011; 45: 359–362.
- Wiegand C., Fink S., Beier O. et al. Dose- and time-dependent cellular effects of cold atmospheric pressure plasma evaluated in 3D skin models. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2016; 29: 257–265.



## Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

**Камадол** (масляный экстракт) (рег. № 96/432/13) – противовоспалительное средство, получаемое из травы ромашки аптечной (ромашки ободранной) *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert (*Matricaria recutita* L., *M. chamomilla* L.) и травы ноготков лекарственных (календулы лекарственной) – *Calendula officinalis* L., экстракцией маслом из плодов расторопши пятнистой – *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

**Леспефлан** (экстракт жидкий очищенный) (рег. №№ 001423/01; 000571; 001865/01) – гипотензивное, диуретическое и противовоспалительное средство в комплексном лечении хронической почечной недостаточности различного генеза, получаемое из побегов леспедецы двуцветной (*Lespedeza bicolor* Turcz.).

**Элеутерококк** (сухой экстракт, таблетки, покрытые оболочкой) (рег. № № 92/210/3; 92/210/7) – общетонизирующее средство, получаемое из корневищ и корней элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.).

**Эвкалимин** (раствор, суппозитории для детей и взрослых) (рег. №№ 90/249/2; 91/194/13; 91/194/12) – антибактериальное и противовоспалительное средство, получаемое из эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru