

ЭНЕРГЕТИКА, ТЕПЛО- И МАССООБМЕН
POWER ENGINEERING, HEAT AND MASS TRANSFER

УДК 539.25

<https://doi.org/10.29235/1561-8358-2020-65-1-72-82>

Поступила в редакцию 10.10.2019

Received 10.10.2019

**Г. Б. Мельникова¹, В. А. Лапицкая¹, Т. А. Кузнецова¹,
Т. Н. Толстая¹, С. А. Чижик^{1,2}, Д. А. Котов³**

¹*Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь*

²*Президиум Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь*

³*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, Минск, Беларусь*

**ВЛИЯНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ ПЛАЗМЫ
АТОСФЕРНОГО БАРЬЕРНОГО РАЗРЯДА НА СТРУКТУРУ И СВОЙСТВА МЕМБРАН
ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ**

Аннотация. Низкотемпературная плазма атмосферного барьерного разряда (ПБР) применяется для лечения различных типов заболеваний и повреждения кожи и мягких тканей; однако механизм взаимодействия ПБР с биологическим материалом к настоящему моменту точно не установлен. Одним из перспективных методов, позволяющих оценить изменения структуры и свойств мембран клеток на наноуровне, является атомно-силовая микроскопия (АСМ). В данной работе представлены результаты влияния ПБР на структуру и свойства эритроцитов и тромбоцитов. АСМ-методом изучены морфометрические и локальные механические свойства поверхности клеток, что является одним из характеристических параметров оценки изменений, происходящих на молекулярном уровне с клеточной мембраной. Авторами использовался экспериментальный комплекс для генерации низкотемпературной плазмы диэлектрического барьерного разряда на основе устройства коаксиального типа и регулируемой мощностью источника от 10 до 30 Вт. Установлено изменение структуры мембран эритроцитов с сохранением формы самих клеток. Для эритроцитов, высушенных на воздухе, отмечается резкий рост силы адгезии после воздействия ПБР. На поверхности эритроцитов и тромбоцитов установлено наличие частиц субмикронного размера, что может быть следствием выхода содержимого клетки или разрушительного воздействия плазмы на белки наружного слоя мембраны. Фиксированные 0,5%-ным раствором глутарового альдегида на подложках слюды образцы клеток сохраняют свою дисковидную форму и структуру мембраны, что может быть связано с образованием ковалентных сшивок между липидами мембраны и глутаровым альдегидом, а также остаточным содержанием жидкости в объеме клетки после взаимодействия с химическим реагентом. Эритроциты являются более устойчивыми к кратковременному воздействию ПБР (1 мин) по сравнению с тромбоцитами. Результаты проведенных исследований могут быть использованы при установлении закономерностей и протекания биохимических процессов под воздействием ПБР на клетки крови.

Ключевые слова: эритроциты, тромбоциты, атомно-силовая микроскопия, структура, низкотемпературная плазма диэлектрического барьерного разряда, сила адгезии

Для цитирования: Влияние воздействия низкотемпературной плазмы атмосферного барьерного разряда на структуру и свойства мембран эритроцитов и тромбоцитов / Г. Б. Мельникова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. физ.-техн. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 72–82. <https://doi.org/10.29235/1561-8358-2020-65-1-72-82>

**Galina B. Melnikova¹, Vasilina A. Lapitskaya¹, Tatyana A. Kuznetsova¹,
Tatyana N. Tolstaya¹, Sergei A. Chizhik^{1,2}, Dmitrii A. Kotov³**

¹*A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

²*Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

³*Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, Belarus*

**INFLUENCE OF THE LOW-TEMPERATURE PLASMA OF THE ATOSPHERIC BARRIER DISCHARGE
ON THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF THE MEMBRANES ERYTHROCYTES AND PLATELETS**

Abstract. The plasma of the atmospheric barrier discharge (PBR) is used to treat various types of diseases and damage to the skin and soft tissues; however, the mechanism of interaction of PBR with biological material has not been precisely established to date. One of the promising methods for estimation changes in the structure and properties of cell membranes at

the nanoscale is atomic force microscopy (AFM). In this article the results of the influence of the barrier discharge low-temperature plasma on the structure and properties of erythrocytes and platelets are presented. By the AFM-method, the shape, morphology of membranes, and adhesive forces on the surface of the cells were determined, which is one of the characteristic parameters for assessing changes occurring at the molecular level with the cell membrane. In this work, we used an experimental complex for generating a low-temperature plasma of a dielectric barrier discharge based on a coaxial type device and an adjustable source power from 10 to 30 W. A change in the structure of the erythrocyte membranes without changing the shape of the cells themselves was established. On the non-fixed erythrocytes, the adhesion force is increased after exposure. On the surface of both erythrocytes and platelets, the presence of particles of submicron size was established, which may be due to the release of cell contents or the destructive effect of plasma on the proteins of the outer layer of the membrane. The cells, which are fixed with a 0.5-mm solution of glutaraldehyde on mica substrates, both retain their disk-like shape and membrane structure, which may be due to the formation of covalent cross-links between membrane lipids and glutaraldehyde, and residual liquid content in the cell volume after interaction with a chemical reagent. Red blood cells are more resistant to short-term exposure to PBR (1 minute) compared with platelets. The results of the studies can be used to establish patterns and the biochemical processes under the influence of PBR on blood cells.

Keywords: erythrocyte, platelets, atomic force microscopy, structure, low temperature plasma, dielectric barrier discharge, adhesion force

For citation: Melnikova G. B., Lapitskaya V. A., Kuznetsova T. A., Tolstaya T. N., Chizhik S. A., Kotov D. A. Influence of the low-temperature plasma of the atmospheric barrier discharge on the structure and properties of the membranes erythrocytes and platelets. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya fizika-technichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Physical-technical series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 72–82 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8358-2020-65-1-72-82>

Введение. Развитие и доступность экспериментального оборудования и источников низкотемпературной атмосферной плазмы барьерного разряда (ПБР) позволило проводить большое количество исследований, связанных с воздействием плазмы на клеточные культуры, клетки крови и различные типы биологических тканей [1]. ПБР может быть использована для лечения повреждений кожи и мягких тканей, заживления ран различного происхождения путем активации иммунных клеток и фибробластов кожи, и, как следствие, увеличения выработки коллагена, обеззараживания поверхностей и стерилизации термочувствительных материалов [2–4]. При данном типе обработки происходит взаимодействие электронов высокой энергии с объектом исследования, что приводит к деструкции поверхностных углеводных структур клеток, увеличению гидрофобности мембран и внутриклеточного pH [5]. Электроны высокой энергии вступают в столкновения с фоновым газом, в результате чего инициируются процессы диссоциации, возбуждения и ионизации [6, 7]. Ионы остаются относительно «холодными», плазма не вызывает термических повреждений [8].

На основании проведенных к настоящему времени исследований воздействия плазмы на биологические клетки определен механизм свободно-радикального окисления белков, которое приводит к образованию различных производных аминокислот – модифицированных остатков триптофана, продуктов неферментативного гликозилирования белков, битирозина. Выявлено снижение уровня молекулярных продуктов перекисного окисления липидов. Установлено, что после воздействия в клетках преобладают пиридиновые нуклеотиды в окисленном состоянии. Показано, что белки грамположительных бактерий подвергаются более выраженной окислительной модификации, чем белки грамотрицательных бактерий.

С использованием метода сканирующей электронной микроскопии продемонстрировано набухание прокариотических и эукариотических клеток, что связано с нарушением водно-солевого баланса и отслоением клеточной стенки, а также установлены метаболические изменения у прокариотических клеток [5, 9].

Так, в работе [5] проводили воздействие низкотемпературной плазмой. Излучение осуществляли с помощью экспериментального устройства ПИЛИМИН серии ИР-10 (производство НИИ ядерной физики имени Д.В. Скобельцына Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия; характеристики используемого разряда: емкость импульсного конденсатора $C = 3,3$ нФ, балластное сопротивление $R = 10$ МОм, напряжение источника питания $U_{и.п} = 11$ кВ, частота повторения импульсов – 10 Гц) на бактериальные штаммы антибиотикорезистентных грамположительных микроорганизмов *Staphylococcus aureus* 5913 и грамотрицательных микроорганизмов *Escherichia coli* 775-3. Установлено, что воздействие излучением плазмы искрового разряда в течение 60 с обладает бактерицидным действием в отношении

грамположительных и грамотрицательных бактерий. Происходит снижение концентрации продуктов перекисного окисления липидов, что может служить причиной нарушения нормального функционирования клетки и способствовать ее гибели. После воздействия излучением плазмы на суспензии бактериальных клеток возрастает гидрофобность мембран в клетках, что обусловлено преобладанием пиридиновых нуклеотидов в окисленном состоянии и может приводить к блокированию работы дегидрогеназ и электрон-транспортной цепи.

Исследователями также было изучено влияние низкотемпературной газоразрядной плазмы на состояние цитоплазматической мембраны эритроцитов [9, 10]. Воздействие проводили на экспериментальном устройстве, генерирующем низкотемпературную плазму с уникальной плотностью частиц до $10^{22} \text{ (см}^2\text{с)}^{-1}$, которое разработано в Российском федеральном ядерном центре – Всероссийском НИИ экспериментальной физики (г. Саров). Энергия, подводимая к разрядному промежутку, равнялась 5 Дж в 1 импульсе, длительность импульса составила 1–10 мкс, импульсы повторялись с частотой 1 Гц. Установлено, что в результате воздействия источником плазмы в течение 15 мин изменяется форма клеток, после 30 мин – уменьшается количество внутриклеточного содержимого во всех эритроцитах. Вероятнее всего, для данного типа плазмы основным действующим фактором являлось УФ-излучение, его воздействие приводило к увеличению активных форм кислорода, лизису клеток и накоплению внутриклеточного содержания гемоглобина. Однако механизм действия холодной плазмы на клетки крови остается дискуссионным, в значительной мере зависит от силы воздействующего источника и типа плазмы и требует дальнейших исследований.

Одним из перспективных методов оценки эффектов воздействия ПБР на клеточные мембраны является атомно-силовая микроскопия (АСМ), которая позволяет оценить изменение структуры поверхности мембраны [11] и ее адгезионные свойства [12], что является одним из характеристических параметров оценки изменений, происходящих на молекулярном уровне с клеточной мембраной. АСМ позволяет подобрать силы, приложенные к зонду, которые не вызывают сдвига определенных частиц или клеток на подложке [13, 14], подобрать параметры воздействия ПБР, меняющие гидрофильные свойства поверхности с одновременным контролем шероховатости [15], а также дает возможность определять изменение свойств поверхности с течением времени после обработки в ПБР.

Цель работы – изучение структуры и физико-механических, включая адгезионные, свойств поверхности мембран эритроцитов и тромбоцитов до и после воздействия низкотемпературной ПБР.

Материалы и методы исследований. Тромбоциты выделяли путем центрифугирования венозной крови, стабилизированной 3,8%-ным раствором цитрата натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), в течение 10 мин при 2000g. Одну часть полученной обогащенной тромбоцитарной плазмы наносили на пластины слюды, вторую фиксировали в 1,5 мл 0,5%-ного буферного раствора глутарового альдегида ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$, производитель Sigma-Aldrich) в течение 30 мин. Путем центрифугирования суспензии в течение 10 мин при 2000g отделяли фиксированные тромбоциты от плазмы крови. Супернатант отбирали, а к осадку добавляли 700 мкл сульфида свинца (PbS), ресуспендировали и центрифугировали 10 мин при 2000g, повторяли два раза. Затем к осадку добавляли 700 мкл дистиллированной воды, ресуспендировали и центрифугировали 10 мин при 2000 g, процедуру проводили дважды.

Эритроциты для исследований выделяли из стабилизированной $\text{K}_3\text{ЭДТА}$ венозной крови доноров. Венозную кровь центрифугировали 3 мин при 90g. Отделяли плазму, а полученный осадок трехкратно отмывали фосфатным буфером PbS (Phosphate Buffered Saline, производитель Sigma-Aldrich). Одну часть эритроцитарной массы наносили на пластины слюды, вторую (3 мкл суспензии эритроцитов) фиксировали в 700 мкл 0,5%-ного буферного раствора $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ в течение 30 мин. После фиксации отделяли эритроциты центрифугированием в течение 3 мин при 90g. К полученному осадку добавляли 700 мкл PbS, ресуспендировали и центрифугировали 3 мин при 90g, процедуру повторяли два раза, затем отмывали в 700 мкл дистиллированной воды, ресуспендировали и центрифугировали 3 мин при 90g, процедуру проводили дважды. Осадок с фиксированными клетками (эритроцитами и тромбоцитами) наносили на пластинки слюды размером 1×1 см. Образцы высушивали на воздухе при комнатной температуре.

Для проведения плазменной обработки использовался экспериментальный комплекс, разработанный в Белорусском государственном университете информатики и радиоэлектроники, в состав которого входят разрядная система, система питания и система подачи рабочего газа (рис. 1, *a*). Газ непрерывно прокачивают через разрядную систему, удаляя тем самым из зоны разряда тепло, возбужденные частицы и продукты различных плазмохимических реакций, которые, как правило, ухудшают устойчивость и характеристики разряда. Возникший диффузный разряд при атмосферном давлении создает однородную плазму по всему объему межэлектродного промежутка.

Диэлектрический барьерный разряд формируется в устройстве коаксиального типа (рис. 1, *b*), которое конструктивно состоит из диэлектрической трубки с металлическими электродами внутри и снаружи ее. Кварцевая трубка имеет внешний диаметр 8 мм. Внутренний электрод представляет собой полый металлический стержень диаметром 1,0 мм. Внешний электрод состоит из медной фольги, плотно прилегающей к кварцевой трубке, шириной 10 мм. Данная разрядная система позволяет формировать плазменный факел длиной до 3 см с зоной обработки диаметром 1 см. В качестве плазмообразующего газа использовался аргон.

Основным элементом системы питания устройства генерации плазмы атмосферного разряда является блок питания. Система питания позволяет изменять параметры в диапазоне частот от 20 до 100 кГц и выходное напряжение от 3 до 10 кВ. Мощность источника плазмы составляла 10–30 Вт. Возможность регулировать параметры (мощность, напряжение и др.) плазмы позволяет подвергать обработке как металлы, так и биологические ткани. Снижение интенсивности плазмы до минимального порога осуществления диэлектрического барьерного разряда дает возможность воздействовать напрямую на отдельные клетки, не разрушая их.

С помощью разработанного комплекса обрабатывали образцы клеток в течение 1 мин. Расстояние от источника до образца было равно 20 мм.

Взаимодействие низкотемпературной плазмы с мембраной клеток (рис. 2, *a*) может вызывать различные биологические эффекты, которые до конца не изучены. При генерации низкотемпературной плазмы диэлектрического барьерного разряда происходят процессы диссоциации, ионизации, возбуждения и рекомбинации атомов и молекул [16], приводящие к появлению активных форм кислорода и азота, образованию свободных радикалов (рис. 2, *b*). Свободные радикалы вступают во взаимодействие с мембраной биологических клеток, частично прикрепляются

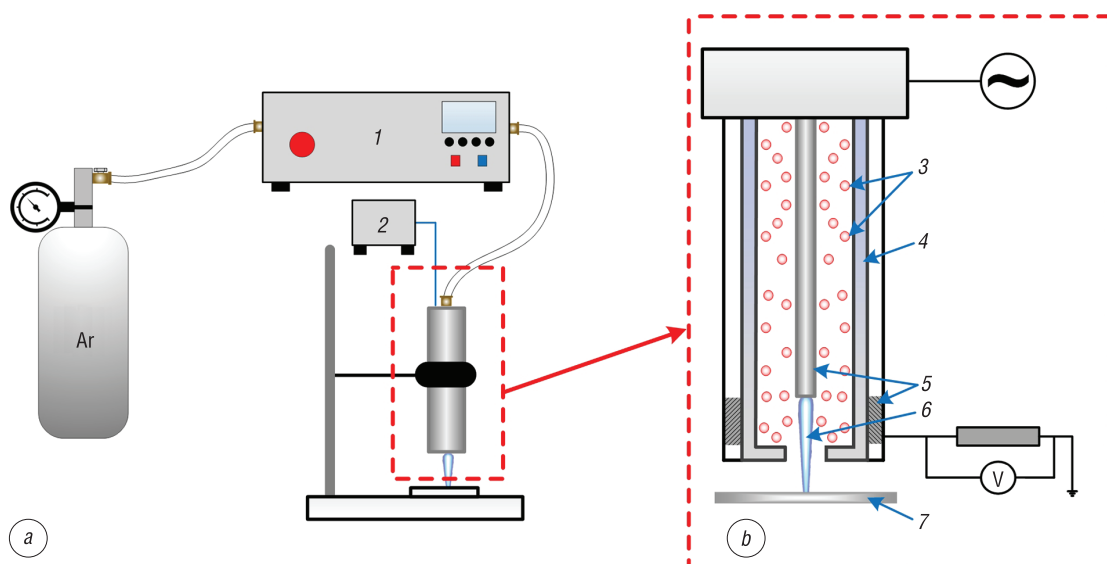


Рис. 1. Структурная схема установки (*a*) и разрядной системы коаксиального типа с диэлектрическим барьерным разрядом (*b*): 1 – регулятор расхода газа и блок управления, 2 – источник питания, 3 – поток газа (аргон), 4 – диэлектрик (кварц), 5 – электроды, 6 – плазма, 7 – образец

Fig. 1. Structural diagram of the installation (*a*) and the discharge system of a coaxial type with a dielectric barrier discharge (*b*): 1 – gas flow regulator and control unit, 2 – power supply, 3 – gas flow (argon), 4 – dielectric (quartz), 5 – electrodes, 6 – plasma, 7 – sample

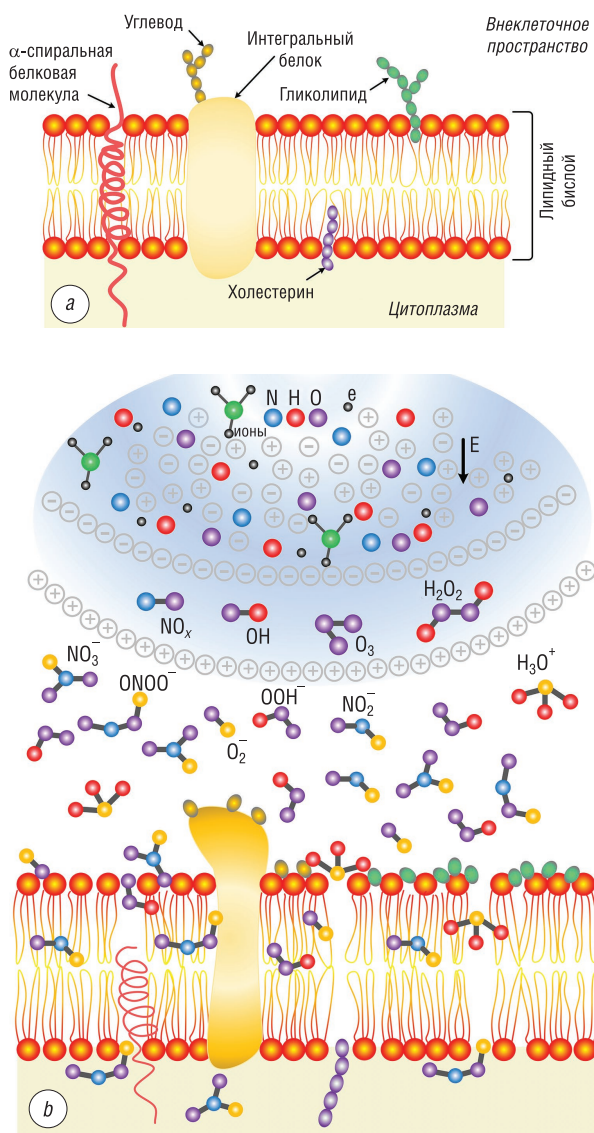


Рис. 2. Структурная схема мембраны клетки до воздействия плазмой (а) и схематичное представление воздействия плазмы диэлектрического барьерного разряда на мембрану клетки (б)

Fig. 2. The structural diagram of the cell membrane before plasma exposure (a) and a schematic representation of the effect of plasma dielectric barrier discharge on the cell membrane (b)

более сглаженные по сравнению с фиксированными образцами. Поры имеют вытянутую форму, в чем-то напоминающую «устыца», которые образуются между структурными элементами поверхности мембраны. В нативном состоянии данное строение обеспечивает эластичное состояние мембраны. Белки плазматической мембраны расположены на ее поверхности или пронизывают липиды, обеспечивая прочность и вязкость мембран. Количество пор на единицу поверхности меньше по сравнению с фиксированными клетками и варьируется от 100 до 340 нм. Шероховатость мембраны при этом незначительно выше у нефиксированных клеток (табл. 1). Мембрана фиксированных образцов имеет развитую поверхность, диаметр пор гораздо меньше (40–60 нм). Это обусловлено образующимися сшивками между глутаровым альдегидом и аминокеттами белков мембраны клетки. Регулярность глобул, выявляемых АСМ-зондом, может отражать строго упорядоченное расположение структурных элементов эритроцитарного цитоскелета.

к поверхности мембраны, частично проходят сквозь мембрану или остаются в липидном бислое и в итоге приводят к выходу белка и клеточного материала на поверхность мембраны, изменению структуры самой мембраны, изменению формы самой клетки и др.

Исследования структуры, распределения значений сил адгезии и шероховатости по поверхности мембран клеток проводили на АСМ Dimension FastScan (Bruker, США) в режиме PeakForce QNM с использованием стандартных кремниевых кантилеверов типа MPP-12120-10 (Bruker, США) с радиусом закругления острия 42 нм и жесткостью консоли 5,8 Н/м. Режим PeakForce QNM (Quantitative NanoMechanics), расширенное название Peak Force Tapping Mode, позволяет качественно получать карты и количественно измерять такие свойства материала, как модуль упругости, адгезия, деформация и диссипация в наномасштабе. Поскольку в режиме Peak Force Tapping Mode происходит постоянный контроль силы, с которой зонд воздействует на образец, глубина деформации образца очень мала и не превышает нескольких нанометров. В каждой точке изображения зонд совершает «подвод-отвод» к поверхности образца с записью силовых кривых. Получение и запись таких кривых, по которым автоматически идет пересчет значений механических свойств (модуль упругости, адгезия и др.) с учетом характеристик используемого зонда, и является основой работы режима PeakForce QNM.

Результаты и обсуждение. На основании АСМ-анализа контрольного образца эритроцитов (без воздействия ПБР) установлено, что нефиксированные глутаровым альдегидом клетки имеют сферическую форму, фиксированные – дисковидную (рис. 3). Диаметр эритроцитов составляет 7,0 мкм.

Мембраны нефиксированных клеток бо-

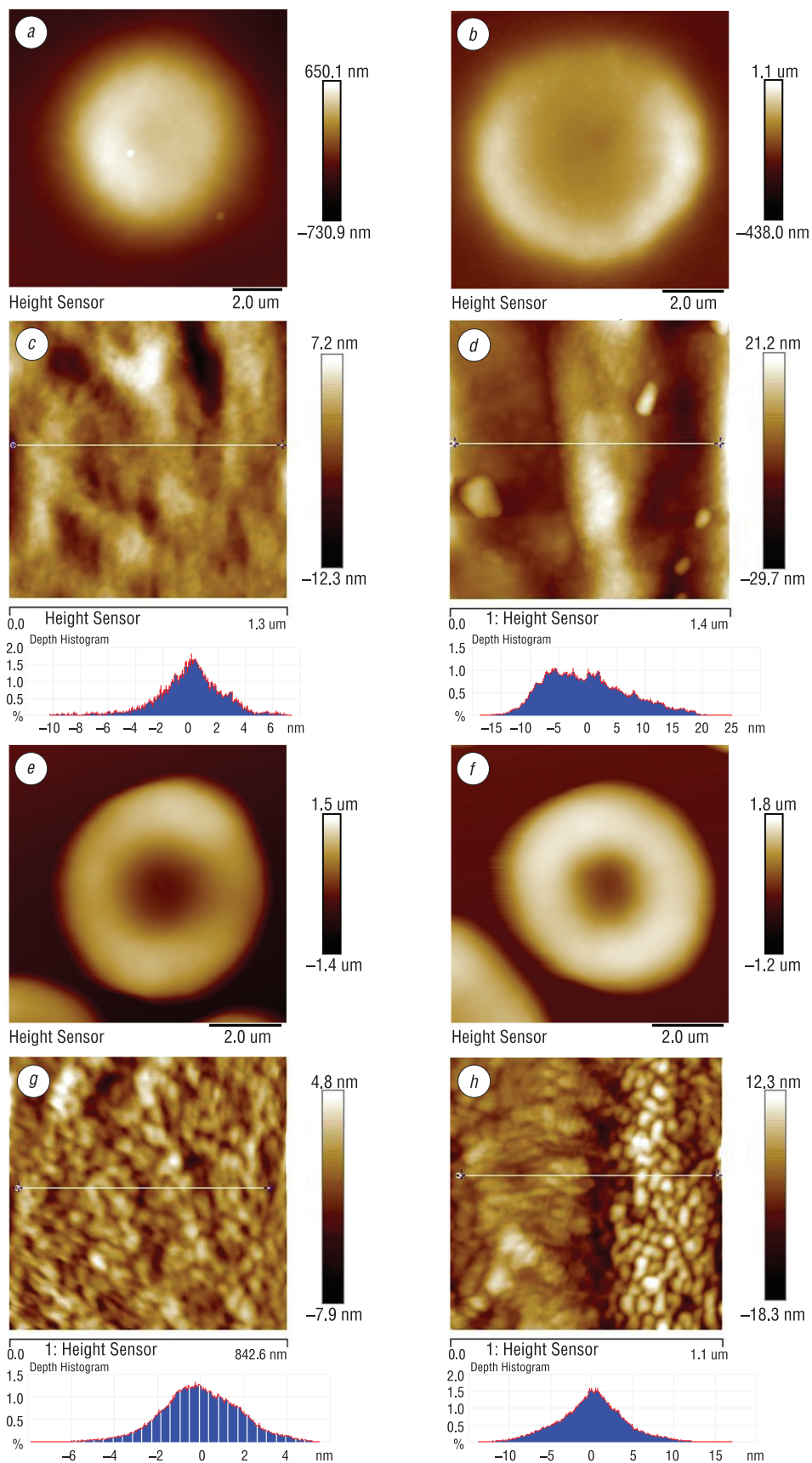


Рис. 3. Структура нефиксированных (a–d) и фиксированных (e–h) эритроцитов до (a, c, e, g) и после (b, d, f, h) обработки плазмой барьерного разряда

Fig. 3. The structure of unfixed (a–d) and fixed (e–h) erythrocytes before (a, c, e, g) and after (b, d, f, h) treatment of barrier discharge plasma

Т а б л и ц а 1. Изменение шероховатости поверхности мембран клеток до и после обработки плазмой диэлектрического барьерного разряда

T a b l e 1. Change in the roughness of the surface of cell membranes before and after treatment of barrier discharge plasma

Клетки плазмы крови	Шероховатость на фиксированном образце, нм						Шероховатость на нефиксированном образце, нм					
	до обработки			после обработки			до обработки			после обработки		
	Ra	Rq	Rz	Ra	Rq	Rz	Ra	Rq	Rz	Ra	Rq	Rz
Эритроциты	1,4	1,8	3,5	3,1	3,9	5,2	1,7	2,3	4,3	5,8	7,1	15,2
Тромбоциты	5,8	8,1	34,1	10,1	13,1	12,4	2,1	2,6	5,1	115,0	146,0	491,0

В результате воздействия ПБР на нефиксированные эритроциты изменяется структура мембран клеток, при этом их форма не изменяется (см. рис. 3, *b*). Также увеличивается шероховатость поверхности (см. рис. 3, *c, d, g, h*; табл. 1). Для мембраны характерна складчатая форма, также отмечается наличие конгломератов диаметром 130–150 нм на ее поверхности, что, по-видимому, связано с выбросом клеточного материала в результате избыточного давления изнутри, создаваемого в процессе воздействия (см. рис. 3, *d*).

Фиксированные образцы (см. рис. 3, *e–h*) сохраняют свою дисковидную форму и структуру мембраны, что может быть объяснено защитным действием глутарового альдегида, а также незначительным содержанием жидкости в объеме клетки после взаимодействия с химическим реагентом.

В результате воздействия ПБР на нефиксированные глутаровым альдегидом эритроциты отмечается резкий рост значений силы адгезии от 5,11 до 37,39 нН по сравнению с фиксированными клетками: от 3,35 до 9,53 нН (табл. 2). Полученный характер изменений связан со структурными особенностями мембран клеток, а также белковыми трансформациями, возможными процессами перекисного окисления липидов в случае нефиксированных клеток, нарушением водно-солевого баланса внутри клетки. Разница в значениях между двумя типами образцов обусловлена большим содержанием внутриклеточной жидкости в нефиксированных клетках.

Структура тромбоцитов представлена на рис. 4. Клетки имеют шарообразную форму диаметром 4–5 мкм. Для поверхности нефиксированных клеток характерна более рыхлая развитая структура мембран по сравнению с фиксированными образцами.

После обработки ПБР установлен выход содержимого мембраны на подложку для нефиксированных и фиксированных глутаровым альдегидом клеток. Происходит значительный рост шероховатости поверхности мембран у нефиксированных тромбоцитов (см. рис. 4, *c, d, g, h*; табл. 1). Для мембран тромбоцитов, нефиксированных глутаровым альдегидом, значения силы адгезии составляют 4,32 нН, после воздействия ПБР значения данного параметра незначительно уменьшились до 3,91 нН (см. табл. 2). Для клеток, фиксированных глутаровым альдегидом, воздействие ПБР приводит к уменьшению значений данного параметра от 7,21 до 5,85 нН.

Для эритроцитов и тромбоцитов было установлено наличие частиц на поверхности клетки. Дополнительно изучалось влияние ПБР на плазме крови донора. Для этого каплю плазмы крови наносили на поверхность слюды и воздействовали также в течение 1 мин ПБР. Установлено наличие объектов таких же морфологии и размеров (рис. 5).

На основании полученных результатов структуры и изменений значений силы адгезии можно предположить возможное разрушительное воздействие плазмы на белки наружного слоя мембраны исследуемых клеток за счет их свободно-радикального окисления после воздействия ПБР. Однако для подтверждения данного предположения необходимо проведение ряда дополнительных исследований.

Т а б л и ц а 2. Изменение силы адгезии поверхности мембран клеток до и после обработки плазмой диэлектрического барьерного разряда

T a b l e 2. Change in the adhesion force of the surface of cell membranes before and after treatment of barrier discharge plasma

Клетки плазмы крови	Сила адгезии на фиксированных образцах, нН		Сила адгезии на нефиксированных образцах, нН	
	до обработки	после обработки	до обработки	после обработки
Эритроциты	3,35	3,53	5,11	37,39
Тромбоциты	7,21	5,85	4,32	3,91

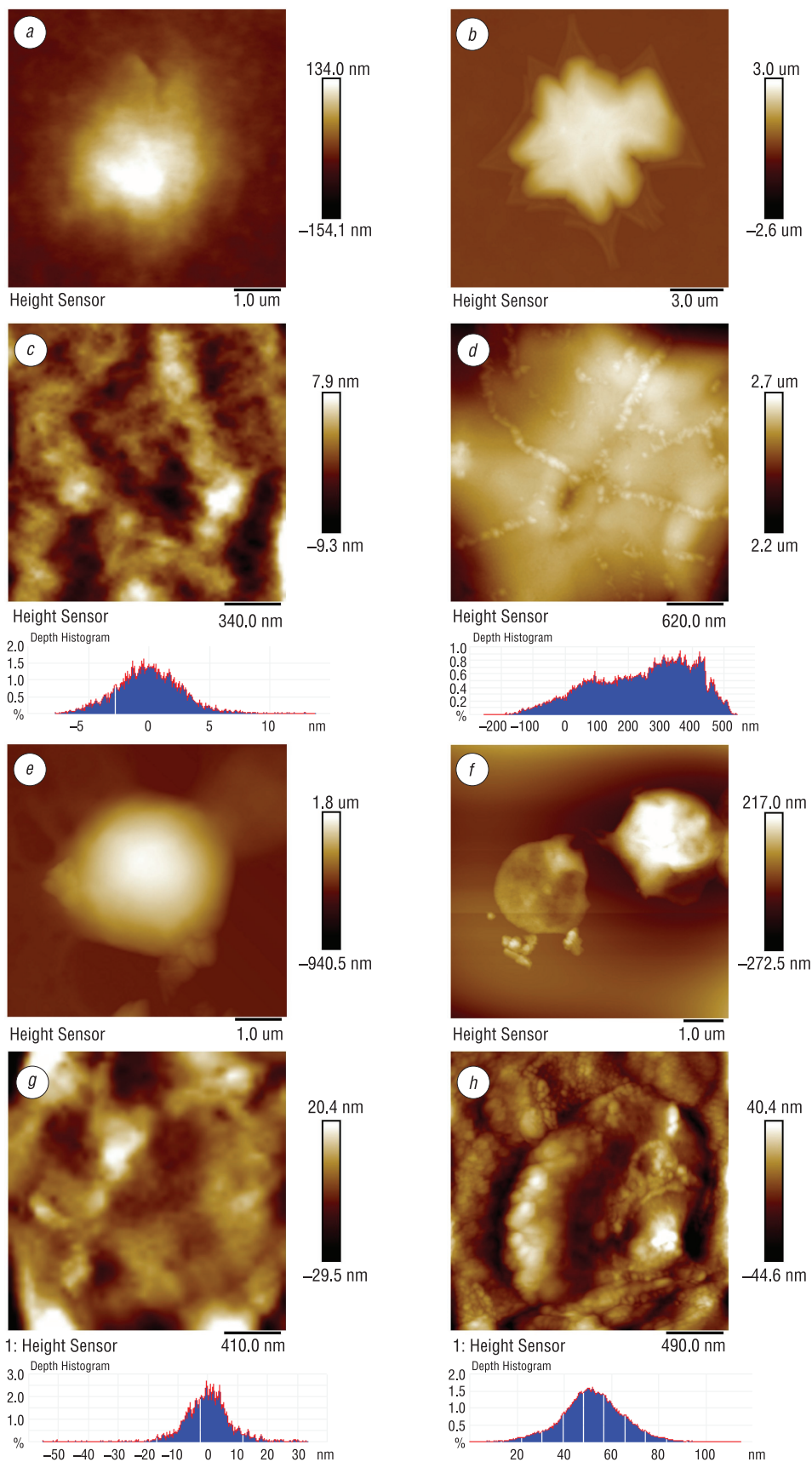


Рис. 4. Структура нефиксированных (a–d) и фиксированных (e–h) тромбоцитов до (a, c, e, g) и после (b, d, f, h) обработки плазмой барьерного разряда

Fig. 4. The structure of unfixed (a–d) and fixed (e–h) thrombocytes before (a, c, e, g) and after (b, d, f, h) treatment of barrier discharge plasma

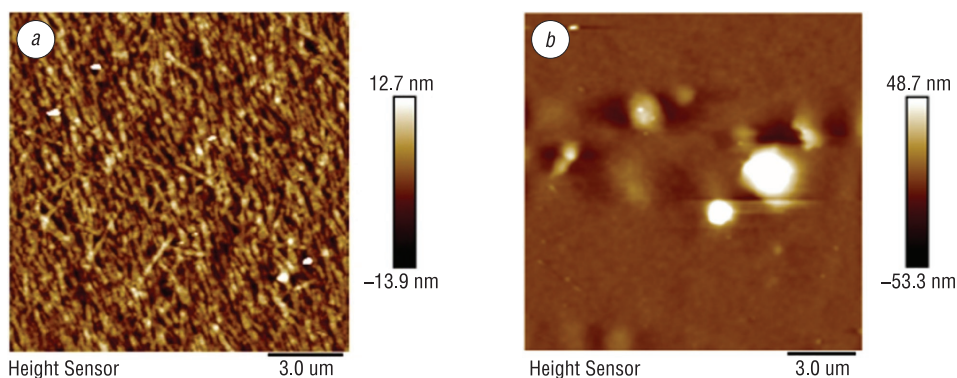


Рис. 5. Структуры плазмы крови до (а) и после (b) воздействия плазмы барьерного разряда

Fig. 5. Plasma structures before (a) and after (b) exposure to barrier discharge plasma

Заклучение. В результате проведения исследований изучено взаимодействие низкотемпературной плазмы с мембраной биологических клеток, а именно эритроцитов и тромбоцитов. Установлено, что воздействие плазмой на клетки в течение 1 мин приводит к выходу белка и клеточного материала на поверхность мембраны клеток, изменению структуры самой мембраны, формы самой клетки и увеличению шероховатости поверхности.

Анализ проведенных АСМ-исследований показал изменение структуры мембран нефиксированных эритроцитов на фоне сохранения формы клетками крови. На поверхности клеток установлено наличие частиц субмикронного размера, что может быть объяснено как выходом содержимого клетки, так и разрушающим воздействием плазмы на белки наружного слоя мембраны. На основании полученных изменений значений сил адгезии, которые существенно возрастают у нефиксированных эритроцитов и немного снижаются у тромбоцитов, можно предположить возможное протекание перекисного окисления липидов в процессе оказываемого воздействия на клетки.

Установлено, что эритроциты являются более устойчивыми к кратковременному воздействию ПБР (1 мин) по сравнению с тромбоцитами.

Проведенные исследования показывают перспективность применения «холодной» плазмы при лечении гнойно-воспалительных заболеваний различной этиологии и локализации, а также в отоларингологии при лечении ринитов, отитов и др.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проекта Ф17-118, осуществляемого совместно с Белорусским государственным университетом информатики и радиоэлектроники.

Acknowledgements

The work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Project F17-118) together with the Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics.

Список использованных источников

1. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma *in vitro*, in biofilms and in the animal model of infected wounds / S. A. Ermolaeva [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2011. – Vol. 60, iss. 1. – P. 75–83. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.020263-0>
2. Laroussi, M. Low temperature plasma-based sterilization: overview and state-of-the-art / M. Laroussi // Plasma Process Polym. – 2005. – Vol. 2, iss. 5. – P. 391–400. <https://doi.org/10.1002/ppap.200400078>
3. Laroussi, M. Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma / M. Laroussi // IEEE Trans. Plasma Sci. – 1996. – Vol. 24, iss. 3. – P. 1188–1191. <https://doi.org/10.1109/27.533129>
4. Влияние ультрафиолетового излучения и излучения плазмы импульсного искрового разряда на зародышевые структуры и мицелий микромицетов-деструкторов / А. А. Ичеткина [и др.] // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н. И. Лобачевского. – 2011. – Т. 2, № 2. – С. 196–201.
5. Исследование механизмов биоцидного действия излучения плазмы искрового разряда / И. П. Иванова [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2012. – № 3. – С. 12–18.
6. Kunhardt, E. E. Generation of large volume atmospheric pressure non-equilibrium plasmas / E. E. Kunhardt // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2000. – Vol. 28, № 1. – P. 189–200. <https://doi.org/10.1109/27.842901>
7. Kogelschatz, U. Filamentary, patterned, and diffuse barrier discharges / U. Kogelschatz // IEEE Trans. Plasma Sci. – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 1400–1408. <https://doi.org/10.1109/TPS.2002.804201>

8. Fridman, G. Medical applications of floating electrode dielectric barrier discharge (FE-DBD) / G. Fridman // First International Conference on Plasma Medicine (ICPM-1). Corpus Christi. – Texas, 2007. – P. 27–32.
9. Трофимова, С. В. Анализ структурных изменений прокариотических и эукариотических клеток под воздействием излучения плазмы искрового разряда / С. В. Трофимова, И. П. Иванова, М. Л. Бугрова // *Фундамент. исслед.* – 2013. – № 4–1. – С. 130–133.
10. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова [и др.]. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
11. Atomic force microscopy probing of cell elasticity / T. G. Kuznetsova [et al.] // *Micron.* – 2007. – Vol. 38, № 8. – P. 824–833. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2007.06.011>
12. Influence of polyacrylic acid nanoparticles on the elastic properties of RBCs membranes in patients with diabetes mellitus type 2 / G. B. Melnikova [et al.] // *Series on Biomechanics.* – 2015. – Vol. 29, № 4. – P. 12–19.
13. The changes in particle distribution over the polymer surface under the dielectric barrier discharge plasma / V. A. Lapitskaya [et al.] // *Int. J. Nanosci.* – 2019. – Vol. 18, Nos. 3, 4. – P. 1940079. <https://doi.org/10.1142/s0219581x19400799>
14. Investigation of the structure of nanocrystalline refractory oxides by X-ray diffraction, electron microscopy, and atomic force microscopy / T. M. Ulyanova [et al.] // *Crystallogr. Rep.* – 2006. – Vol. 51. – S144–S149. <https://doi.org/10.1134/s1063774506070212>
15. Влияние обработки поверхностей материалов в плазме диэлектрического барьерного разряда на их морфологию и гидрофильные свойства / В. А. Лапицкая [и др.] // *Инж.-физ. журн.* – 2019. – Т. 92, № 5. – С. 2389–2394. <https://doi.org/10.1007/s10891-019-02050-1>
16. Возможности применения холодной атмосферной плазмы в онкологии (Обзор литературы) / В. Н. Короткий // *Сибир. онкол. журн.* – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 72–81. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-1-72-81>

References

1. Ermolaeva S. A., Varfolomeev A. F., Chernukha M. Yu., Yurov D. S., Vasiliev M. M., Kaminskaya A. A., Moisenovich M. M., Romanova J. M., Murashev A. N., Selezneva I. I., Shimizu T., Sysolyatina E. V., Shaginyan I. A., Petrov O. F., Mayevsky E. I., Fortov V. E., Morfill G. E., Naroditsky B. S., Gintsburg A. L. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma *in vitro*, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *Journal of Medical Microbiology*, 2011, vol. 60, iss. 1, pp. 75–83. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.020263-0>
2. Laroussi M. Low temperature plasma-based sterilization: overview and state-of-the-art. *Plasma Processes and Polymers*, 2005, vol. 2, iss. 5, pp. 391–400. <https://doi.org/10.1002/ppap.200400078>
3. Laroussi M. Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. *IEEE Transactions on Plasma Sciences*, 1996, vol. 24, iss. 3, pp. 1188–1191. <https://doi.org/10.1109/27.533129>
4. Ichetkina A. A., Trofimova S. V., Kryazhev D. V., Ivanova I. P., Smirnov V. F. The effect of ultraviolet radiation and pulse spark discharge plasma radiation on embryonal structures and mycelium of micromycetes-destroyers. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobachevskogo = Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod*, 2011, vol. 2, no. 2, pp. 196–201 (in Russian).
5. Ivanova I. P., Trofimova S. V., Piskaryov I. M., Burkhina O. E., Sysoeva V. A., Karpel Vel Leitner N. The study of biocidal mechanisms of spark discharge plasma radiation. *Sovremennye tekhnologii v meditsine = Modern Technologies in Medicine*, 2012, no. 3, pp. 12–18 (in Russian).
6. Kunhardt E. E. Generation of large volume atmospheric pressure non-equilibrium plasmas. *IEEE Transactions on Plasma Sciences*, 2000, vol. 28, no. 1, pp. 189–200. <https://doi.org/10.1109/27.842901>
7. Kogelschatz U. Filamentary, patterned, and diffuse barrier discharges. *IEEE Transactions on Plasma Sciences*, 2002, vol. 30, no. 4, pp. 1400–1408. <https://doi.org/10.1109/TPS.2002.804201>
8. Fridman G. Medical applications of floating electrode dielectric barrier discharge (FE-DBD). *First International Conference on Plasma Medicine (ICPM-1). Corpus Christi. Texas*, 2007, pp. 27–32.
9. Trofimova S. V., Ivanova I. P., Bugrova M. L. The analysis of structural changes of prokaryotic and eukaryotic cell under the influence of plasma spark radiation. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*, 2013, vol. 4–1, pp. 130–133 (in Russian).
10. Men'shchikova E. B., Lankin V. Z., Zenkov N. K., Bondar' I. A., Krugovykh N. F., Trufakin V. A. *Oxidative Stress. Prooxidants and Antioxidants*. Moscow, Slovo Publ., 2006. 556 p. (in Russian).
11. Kuznetsova T. G., Starodubtseva M. N., Yegorenkov N. I., Chizhik S. A., Zhdanov R. I. Atomic force microscopy probing of cell elasticity. *Micron*, 2007, vol. 38, no. 8, pp. 824–833. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2007.06.011>
12. Melnikova G. B., Kuzhel N. S., Tolstaya T. N., Konstantinova E. E., Drozd E. S., Shyshko O. N., Mokhort T. V., Antonova N., Kowalczyk A., Koseva N. Influence of polyacrylic acid nanoparticles on the elastic properties of RBCs membranes in patients with diabetes mellitus type 2. *Series on Biomechanics*, 2015, vol. 29, no. 4, pp. 12–19.
13. Lapitskaya V. A., Kuznetsova T. A., Melnikova G. B., Chizhik S. A., Kotov D. A. The changes in particle distribution over the polymer surface under the dielectric barrier discharge plasma. *International Journal of Nanoscience*, 2019, vol. 18, nos. 3, 4, pp. 1940079. <https://doi.org/10.1142/s0219581x19400799>
14. Ulyanova T. M., Titova L. V., Medichenko S. V., Zonov Yu. G., Konstantinova T. E., Glazunova V. A., Doroshkevich A. S., Kuznetsova T. A. Investigation of the structure of nanocrystalline refractory oxides by X-ray diffraction, electron microscopy, and atomic force microscopy. *Crystallography Reports*, 2006, vol. 51, S144–S149. <https://doi.org/10.1134/s1063774506070212>
15. Lapitskaya V. A., Kuznetsova T. A., Rogachev A. A., Melnikova G. B., Chizhik S. A., Kotov D. A. Influence of processing in a plasma of dielectric barrier discharge on morphology and hydrophilic properties of surfaces of glass, metal and polymers. *Journal of Engineering Physics*, 2019, vol. 92, no. 5, pp. 1349–1354 (in Russian). <https://doi.org/10.1007/s10891-019-02050-1>
16. Korotky V. N. Feasibility of using cold atmospheric plasma in the treatment of cancer patients (literature review). *Siberian Journal of Oncology*, 2018, vol. 17, no. 1, pp. 72–81. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-1-72-81>

Информация об авторах

Мельникова Галина Борисовна – кандидат технических наук, доцент, старший научный сотрудник, Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси (ул. П. Бровки, 15, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: galachkax@gmail.com

Латицкая Василина Александровна – научный сотрудник, Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси (ул. П. Бровки, 15, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vasilinka.92@mail.ru

Кузнецова Татьяна Анатольевна – кандидат технических наук, доцент, заместитель заведующего лабораторией нанопроцессов и технологий, Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси (ул. П. Бровки, 15, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kuzn06@mail.ru

Толстая Татьяна Николаевна – научный сотрудник, Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси (ул. П. Бровки, 15, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tolstaya.tn@yandex.ru

Чижик Сергей Антонович – академик Национальной академии наук Беларуси, доктор технических наук, профессор, первый заместитель Председателя Президиума Национальной академии наук Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь); главный научный сотрудник, Институт тепло- и массообмена имени А. В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси (ул. П. Бровки, 15, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: chizhik_sa@tut.by

Котов Дмитрий Анатольевич – кандидат технических наук, доцент, руководитель НИР, директор Центра 4.13, Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники (ул. П. Бровки, 66, 220013, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kotov@bsuir.by

Information about the authors

Galina B. Melnikova – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Senior Researcher, A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (15, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: galachkax@gmail.com

Vasilina A. Lapitskaya – Researcher, A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (15, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vasilinka.92@mail.ru

Tatyana A. Kuznetsova – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Senior Researcher, A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (15, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kuzn06@mail.ru

Tatyana N. Tolstaya – Researcher, A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (15, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tolstaya.tn@yandex.ru

Sergei A. Chizhik – Academician of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Engineering), Professor, First Deputy Chairman of the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus); Chief Researcher, A. V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus (15, P. Brovka Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: chizhik_sa@tut.by

Dmitrii A. Kotov – Ph. D. (Engineering), Associate Professor, Director of Center “Engineering and Educational center “Isovac-BSUIR”, Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics (66, P. Brovka Str., 220013, Republic of Belarus). E-mail: kotov@bsuir.by