

ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО ОТВЕТА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ХОЛОДНОЙ ГЕЛИЕВОЙ ПЛАЗМЫ

© 2019 г. А.К. Мартусевич* **, С.Ю. Краснова*, А.Г. Галка* ***,
П.В. Перетягин*, Д.В. Янин* ***, А.В. Костров***

*Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

**Ассоциация российских озонотерапевтов, 603089, Нижний Новгород, ул. Б. Панина, 9

***Федеральный исследовательский центр «Институт прикладной физики РАН»,
603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

E-mail: cryst-mart@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.02.2018 г.

После доработки 20.09.2018 г.

Принята к публикации 25.02.2019 г.

В работе оценена реакция микроциркуляции на проведение курса локального воздействия гелиевой холодной плазмы. Эксперимент выполнен на 20 здоровых крысах линии Вистар, разделенных на две группы по десять животных в каждой. Животным контрольной группы проводили однократное измерение показателей микроциркуляции. Крысы основной группы получали курс, включающий пять ежедневных сеансов (по 1 мин) обработки кожи спины животных потоком гелиевой холодной плазмы. Генерацию холодной плазмы производили с помощью устройства оригинальной конструкции, созданного в Институте прикладной физики РАН (Нижний Новгород) и основанного на принципе СВЧ-индуцированной ионизации газового потока. Оценку состояния микроциркуляции осуществляли методом лазерной доплеровской флоуметрии на аппарате «ЛАКК-М» (НПО «Лазма», Москва). Установлено, что осуществление непродолжительного курса воздействия холодной гелиевой плазмой способствует умеренному снижению интенсивности кровотока по сосудам малого диаметра за счет NO-зависимой вазодилатации и оптимизации роли шунтирующих механизмов в формировании микроциркуляции. Это указывает на проадаптивный гемодинамический эффект изучаемого физического фактора.

Ключевые слова: холодная гелиевая плазма, микроциркуляция, оксид азота.

DOI: 10.1134/S0006302919040161

Плазменная медицина – одно из наиболее динамично развивающихся научных направлений, формирующихся на стыке биомедицины и физики в последние два десятилетия [1–5]. За этот период накоплено большое количество фактов, указывающих на реагирование различных биосистем на воздействие плазмы [2,6–11]. Холодная плазма с физических позиций представляет собой ионизированную газовую смесь, охлажденную до температуры, близкой к температуре тела теплокровных животных и человека [1,3,5,12]. С учетом невозможности значительного повышения температуры внутри биологической системы классический вариант плазменного потока, имеющего собственную температуру в пределах 3000–5000°C [1,2,12,13], не может быть применен в отношении живых объектов. В связи с этим проводится дополнительное охлаждение потока для получения холодной плазмы [14–16]. Как показано

ранее, принципиальной особенностью холодной плазмы является большая концентрация заряженных частиц при ее суммарной нейтральности [1,3,4,6,9–11], что способно обуславливать ее специфичную биологическую активность.

С учетом того, что в большинстве случаев в качестве базовой среды-носителя для холодной плазмы используется атмосферный воздух, данный воздействующий фактор назван «холодной атмосферной плазмой» [2,5,9,12,15,17,18]. В то же время у холодной атмосферной плазмы имеется существенный и практически неустраняемый недостаток, связанный с невозможностью стандартизации состава исходного газа и, следовательно, генерируемой холодной плазмы [16,19,20].

Несмотря на активно проводимые изыскания в области оценки применимости даже атмосферной холодной плазмы, большинство из них ориентированы на описание действия рассматриваемой

мое агента на различные микроорганизмы *in vitro* и *in vivo* в плане расшифровки его антибактериальной активности [2,8,10,11,21,22]. При этом иные локальные эффекты холодной плазмы исследованы существенно слабее. Это в полной мере касается и оценок системного влияния фактора [3,4,17,18].

С другой стороны, показанное в нашей предшествующей работе действие холодной гелиевой плазмы на состояние окислительного метаболизма и физико-химические характеристики плазмы крови создает предпосылки для проявления у изучаемого агента системных эффектов [16]. С учетом того, что гемодинамика как на местном, так и на организменном уровнях является одной из наиболее быстро реагирующих на внешние воздействия систем, целью настоящего исследования служила оценка реакции микроциркуляции на проведение курса локального воздействия гелиевой холодной плазмы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 20 здоровых половозрелых крысах-самцах линии Вистар (масса тела 200–250 г) разделенных на две равных по численности группы. Животным первой (контрольной) группы ($n = 10$) проводили лишь однократное измерение показателей микроциркуляции. Крысы второй (основной) группы ($n = 10$) получали курс, включающий ежедневные сеансы обработки кожи спины животных потоком гелиевой холодной плазмы, после которого также однократно оценивали состояние микроциркуляции. Предварительная подготовка животных включала эпиляцию шерсти в области воздействия холодной плазмы (площадь обрабатываемого участка спины – 10% поверхности тела животного). Курс состоял из пяти процедур продолжительностью 1 мин каждая, в течение этого времени животных фиксировали.

Генерацию холодной плазмы проводили с помощью устройства оригинальной конструкции, созданного в Институте прикладной физики РАН (Нижний Новгород) и основанного на принципе СВЧ-индуцированной ионизации газового потока [16]. Газом-носителем служил высокоочищенный гелий из баллонного источника.

Оценку состояния микроциркуляции осуществляли методом лазерной доплеровской флоуметрии на аппарате «ЛАКК-М» (НПО «Лазма», Москва) [7]. Запись ЛДФ-граммы проводили в течение 3 мин. Полученные данные позволяли рассчитать показатель, характеризующий усредненную интенсивность кровотока по сосудам малого диаметра за указанный период (по показателю микроциркуляции), относительную актив-

ность регуляторных факторов путем изучения амплитудно-частотного спектра и степень участия шунтирующих путей микроциркуляции, выражаемую в форме показателя шунтирования [7]. Согласно данным разработчиков примененной диагностической аппаратуры, спектр активных факторов регуляции кровотока по микрососудам включал эндотелиальный компонент, отражающий высвобождение эндотелиоцитами оксида азота, нейрогенный компонент, указывающий на уровень нейрогенной стимуляции тонуса микроциркуляторного русла, и миогенный, косвенно свидетельствующий о вкладе мышечного тонуса и роли сфинктерного аппарата в формирование микроциркуляции [7]. Пассивными факторами регуляции служат дыхательный (отражает вклад дыхательных волн) и сердечный (указывает на роль пульсовых волн) компоненты. Для анализа использовали значения частотных диапазонов, скорректированные для крыс [23].

С целью изучения потенциального участия теплового фактора в реализации эффектов холодной плазмы оценивали температуру обрабатываемой поверхности кожи с помощью портативного инфракрасного термометра «Fluke 59 Max+».

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.1 for Windows. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли H -критерий Краскала–Уоллеса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ непосредственно регистрируемого параметра – показателя микроциркуляции – позволил установить (рис. 1), что у здоровых животных проведение курса обработки гелиевой холодной плазмой способствует умеренному снижению интенсивности микроциркуляции (на 14% относительно контрольной группы; $p < 0,05$).

В целях уточнения механизмов, обеспечивающих подобный эффект, нами была изучена активность регуляторных факторов микроциркуляции (рис. 2). Выявлено, что у крыс, подвергнутых воздействию холодной плазмы, практически двукратно возрастает участие в регуляции кровотока по сосудам малого диаметра эндотелиального компонента ($p < 0,05$ по отношению к контрольной группе). На этом фоне активность второго внутреннего (нейрогенного) фактора остается практически неизменной. Напротив, для пассивных внешних механизмов регуляции состояния микроциркуляции наблюдали угнетение, выраженное в различной степени для отдельных пара-

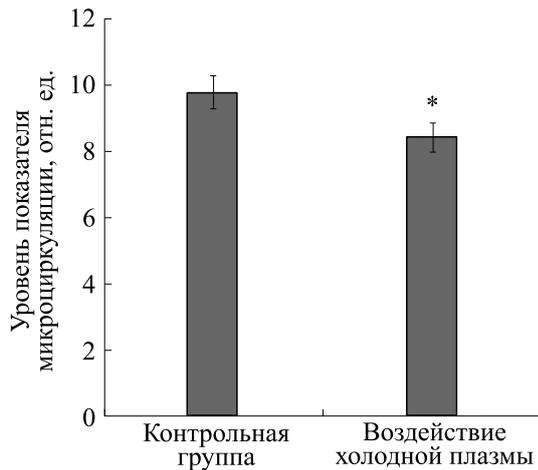


Рис. 1. Уровень показателя микроциркуляции у интактных и прошедших курс обработки гелиевой холодной плазмой крыс (* – различия статистически значимы, $p < 0,05$).

метров Так, наиболее стабильным оказался миогенный фактор, амплитуда которого уменьшилась лишь на 20% ($p < 0,05$ по сравнению с интактными животными). В то же время дыхательный компонент и вклад пульсовой волны снизились соответственно на 40 и 37% ($p < 0,05$ для обоих показателей).

Третьей оцениваемой характеристикой состояния микроциркуляции явилась задействованность шунтирующих путей в обеспечении микрокровотока (рис. 3), устанавливаемая по уровню показателя шунтирования. Обнаружено, что после курса воздействия гелиевой холодной плазмы имеет место умеренное повышение указанного параметра (на 26% по сравнению с интактными крысами; $p < 0,05$), что указывает на повышение роли шунтирующих механизмов в регуляции тока крови по мелким сосудам.

Оценка поверхностной температуры участков кожи до начала эксперимента и в процессе обработки холодной плазмой позволила установить, что рассматриваемый фактор не способствует значимому нагреванию поверхности. Так, исходная температура поверхности кожи крыс составляла $28,7 \pm 1,2^\circ\text{C}$, а по завершении сеанса воздействия гелиевой холодной плазмы – $29,3 \pm 1,5^\circ\text{C}$ ($p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как уже указывалось, состояние микроциркуляции, наряду с характеристиками системной гемодинамики, имеет высокую временную вариабельность, так как зависит от совокупности внешних и внутренних факторов. Вследствие этого микроциркуляция может рассматриваться как

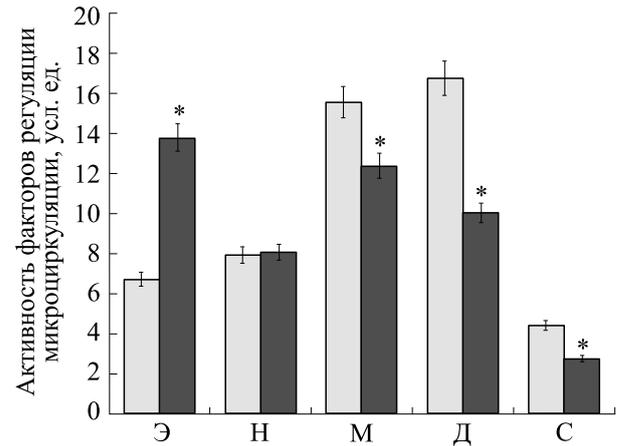


Рис. 2. Активность факторов регуляции микроциркуляции у интактных (светлые столбики) и прошедших курс обработки гелиевой холодной плазмой крыс: Э – эндотелиальный компонент, Н – нейрогенный компонент, М – миогенный компонент, Д – дыхательный компонент, С – сердечный компонент; * – различия статистически значимы, $p < 0,05$.

экспресс-индикатор функционального ответа организма на различные стрессоры, к числу которых потенциально относится и изучаемый нами поток гелиевой холодной плазмы.

В проведенном исследовании установлено, что интегральным результатом проведения краткого курса воздействия холодной плазмы служит снижение интенсивности микрокровотока. Изолированное рассмотрение этой тенденции может характеризовать наблюдаемый эффект как негативный, однако сведения об особенностях модификации регуляторных механизмов локального

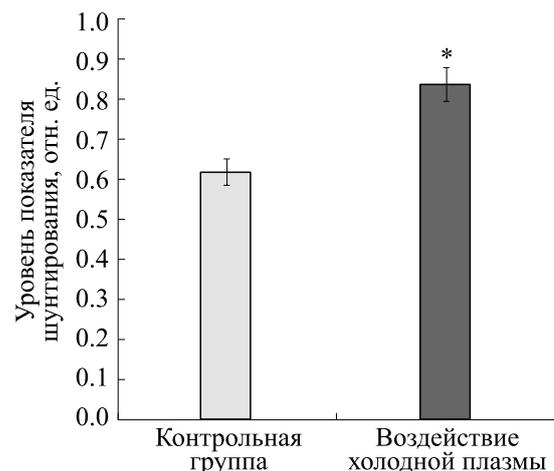


Рис. 3. Уровень показателя шунтирования у интактных и прошедших курс обработки гелиевой холодной плазмой крыс (* – различия статистически значимы, $p < 0,05$).

кровотока, реализуемых в созданных условиях, принципиально меняют представление о происходящих процессах.

В частности, наиболее значимым является стимулирующее влияние холодной плазмы на эндотелиальный компонент, предусматривающее его двухкратную активацию. Если учитывать сопряженность уровня параметра с высвобождением монооксида азота стенкой сосуда [7], подобные сдвиги свидетельствуют об NO-зависимой вазорелаксации, происходящей под влиянием курса чрезкожной обработки гелиевой холодной плазмой. Приведенный механизм и обеспечивает снижение интенсивности микроциркуляции, что позволяет рассматривать данную реакцию как проадаптивную.

Следует отметить, что на этом фоне активность внешних факторов регуляции снижается, оптимизируя собственные, внутрисосудистые механизмы.

Дополнительно о позитивности действия на систему микроциркуляции свидетельствует и динамика показателя шунтирования. Данный параметр, характеризующий степень вовлеченности обходных путей микроциркуляции, под влиянием холодной плазмы нормализуется, практически достигая физиологических значений.

Все вышеперечисленное, а также отсутствие влияния фактора на поверхностную температуру кожи животных позволяют предположить проадаптивный эффект краткого курса обработки крыс холодной гелиевой плазмой в отношении локальной гемодинамики.

Также следует отметить, что в особенностях реализации установленного эффекта остаются определенные нерешенные вопросы, к которым, в частности, относится оценка продолжительности сохранения эффекта действия холодной плазмы на систему микроциркуляции. Данные аспекты предполагается изучить в последующих исследованиях. С другой стороны, уже полученные в рамках данной работы результаты позволяют предположить возможность применения гелиевой холодной плазмы в качестве способа стимуляции регенераторных процессов при ранах травматического и ожогового генеза. Этому дополнительно способствует наличие у изучаемого фактора выраженной антибактериальной активности, продемонстрированной в отечественных и зарубежных публикациях [2,6,8,10,18,19,21,22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили установить, что осуществление непродолжительного (пять ежедневных процедур) курса воздействия холодной гелиевой плазмой способствует уме-

ренному снижению интенсивности кровотока по сосудам малого диаметра за счет NO-зависимой вазодилатации и оптимизации роли шунтирующих механизмов в формировании микроциркуляции. Это указывает на проадаптивный гемодинамический эффект изучаемого физического фактора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. Н. Алейник, *Плазменная медицина: учебное пособие* (Изд-во ТПУ, Томск, 2011).
2. M. Y. Alkawareek, S. P. Gorman, W. G. Graham, and B. F. Gilmore, *Int J. Antimicrob. Agents* **43**, 154 (2014).
3. D. Dobrynin, D. Fridman, G. Friedman, and A. Fridman, *New J. Phys.* **11**, 1 (2009).
4. M. G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill, et al., *New J. Phys.* **11**, 115012 (2009).
5. M. Laroussi, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **37**, 714 (2009).
6. Б. Б. Балданов, Ц. Р. Ранжуров, Ч. Н. Норбоев и др., *Вестн. ВСГУТУ*, № **4**, 56 (2015).
7. А. И. Крупаткин и В. В. Сидоров, *Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность. Руководство для врачей* (ЛИБРОКОМ, М., 2013).
8. N. H. Alshraiedeh, S. Higginbotham, P. B. Flynn, et al., *Int. J. Antimicrob. Agents* **47**, 446 (2016).
9. K. Duske, K. Wegner, M. Donnert, et al., *Plasma Process Polym.* **12**, 1050 (2015).
10. S. A. Ermolaeva, A. F. Varfolomeev, M. Yu. Chernukha, et al., *J. Med. Microbiol.* **60**, 75 (2011).
11. P. B. Flynn, A. Buseti, E. Wielogorska, et al., *Sci. Rep.* **6**, 26320 (2016).
12. K. Lotfy, *Austin Biochem.* **1** (1), 1001 (2016).
13. V. Scholtz, et al., *Biotechnol. Adv.* **33** (6), 1108 (2015).
14. Д. Г. Лапитан и др., *Медицинская физика*, № **1**, 61 (2012).
15. А. К. Мартусевич, С. П. Перетягин и А. Ф. Ванин, *Медицинская физика*, № **4**, 80 (2012).
16. А. К. Мартусевич, А. Г. Соловьева, Д. В. Янин и др., *Вестн. новых медицинских технологий* **24** (3), 163 (2017).
17. E. Stoffels, Y. Sakiyama, D.B. Graves, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **36**, 1441 (2008).
18. C. Wiegand, S. Fink, O. Beier, et al., *Skin Pharmacol. Physiol.* **29**, 257 (2016).
19. S.-M. Kim and J.-I. Kim, *J. Microbiol.* **44** (4), 466 (2006).
20. T. Von Woedtke, S. Reuter, K. Masur, and K. D. Weltmann, *Phys. Rep.* **530**, 291 (2013).
21. D. Butscher, D. Zimmermann, et al., *Food Control* **60b** 636 (2016).
22. K. Lee, K. Paek, W. T. Ju, and Y. Lee, *J. Microbiol.* **44** (2), 269 (2006).
23. F. Bajrovic, M. Cencur, M. Hozic, et al., *Eur. J. Physiol.* **439** (Suppl), R158 (2000)

Estimation of Microcirculatory Response to the Influence of Cold Helium Plasma

A.K. Martusevich* **, S.Yu. Krasnova*, A.G. Galka* *, P.V. Peretyagin*,
D.V. Yanin* ***, and A.V. Kostrov*****

**Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,
pl. Minina i Pojarskogo 10/1, Nizhni Novgorod, 603005 Russia*

***Russian Association of Ozone Therapy, ul. B. Panina 9, Nizhni Novgorod, 603089 Russia*

****Federal Research Center "Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences",
ul. Ulyanova 46, Nizhni Novgorod, 603950 Russia*

The aim of this study was to estimate the microcirculatory response to local action of the cold helium plasma. Experiments were performed on 20 healthy male Wistar rats divided into two equal groups of 10. Animals of the first (control) group (n = 10) were examined and single measurement of microcirculatory indices was applied. Rats of the second (main) group (n = 10) underwent a course which included 5 daily treatment of the back skin surface of animals using cold helium plasma (exposure time – 1 min). Cold helium plasma was generated with a special device designed and constructed at the Institute of Applied Physics (Nizhni Novgorod, Russia) and based on microwave-induced ionization of gas flow. Microcirculation was estimated with laser Doppler flowmetry using a "LAKK-M" device (Moscow, Russia). It has been established that a short course (5 daily procedures) of exposure to cold helium plasma caused a moderate decrease in the intensity of blood flow in small vessels. This tendency was associated with nitric oxide-dependent vasodilatation and optimization of a role of bypass mechanisms in microcirculation formation. This indicates that the studied factor has a proadaptive, hemodynamic effect.

Keywords: cold helium plasma, microcirculation, nitric oxide