Влияние холодной гелиевой плазмы на метаболические и физико-химические параметры крови человека *in vitro*

А.К. Мартусевич[1, 2], А.Г. Соловьева[1], С.Ю. Краснова[1], Д.В. Янин[1, 3], А.Г. Галка[1, 3], А.В. Костров[3]

[1] – ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Нижний Новгород
[2] – Ассоциация российских озонотерапевтов, Нижний Новгород
[3] – ФИЦ «Институт прикладной физики РАН», Нижний Новгород

Контактная информация: д.б.н. Мартусевич Андрей Кимович, cryst-mart@yandex.ru

Цель данного исследования – сравнительная оценка сдвигов окислительного метаболизма и кристаллогенных свойств плазмы крови при обработке гелиевой холодной плазмой и неионизированным потоком гелия. Изучали действие СВЧ-генерированной гелиевой холодной плазмы на образцы цельной крови человека. Продолжительность воздействия составляла 1 и 3 мин. Для проведения эксперимента образцы крови делили на 5 равных порций по 1,5 мл, причем первая из них являлась контрольной (с ней не осуществляли никаких манипуляций), вторую и третью обрабатывали холодной плазмой с указанными выше экспозициями, а четвертую и пятую – потоком гелия без перевода его в плазменную форму. В плазме крови всех образцов исследовали параметры окислительного метаболизма методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции и кристаллогенную активность. Установлено, что холодная гелиевая плазма и неионизированный поток гелия оказывают модифицирующее влияние на окислительный метаболизм и кристаллогенные свойства плазмы крови при обработке *in vitro*. Для холодной плазмы оно проявилось в антиоксидантном эффекте и стимуляции кристаллогенной активности, тогда как у потока гелия обнаружено прооксидантное действие и способность угнетать дегидратационную структуризацию биосреды. При этом наиболее оптимальной для действия холодной плазмы является 1-минутная экспозиция.

Ключевые слова: холодная плазма, биологические эффекты, плазма крови, окислительный метаболизм, кристаллогеные свойства.

Введение

Исследования в области физики плазмы проводятся уже на протяжении длительного времени в России и за рубежом [1, 21, 22, 26]. В то же время биомедицинские аспекты действия холодной плазмы различного происхождения и состава рассмотрены существенно менее подробно. В первую очередь эти данные относятся к оценке клинических перспектив применения генераторов холодной плазмы [4], в т.ч. аппарата «Плазон» (МГТУ им. Н.Э. Баумана) [4, 6, 25, 7], газовый поток от которых формируется в большинстве вариантов из атмосферного воздуха и дозируется по концентрации монооксида азота либо др. соединений с известной биологической активностью [6, 7].

С другой стороны, эффекты именно самой холодной плазмы изучены лишь в единичных публикациях [26, 11, 14, 17], преимущественно посвященных дезинфицирующим свойствам данного

воздействия [11, 15-17, 24], тогда как биологические эффекты холодной плазмы, составляющие базис ее клинического применения, исследованы относительно слабо. В немногочисленных работах, в которых рассматривается влияние этого фактора на биосистемы, использовали либо воздушную [21, 22, 26, 15, 18, 27], либо аргоновую плазму [16, 2].

На основании этого **целью** данного исследования служила сравнительная оценка сдвигов окислительного метаболизма и кристаллогенных свойств плазмы крови при обработке гелиевой холодной плазмой и неионизированным потоком гелия.

Материалы и методы

В эксперименте были использованы образцы цельной крови здоровых добровольцев (n=10). Для осуществления воздействия нами была собрана специальная установка, позволяющая проводить непосредственную обработку образцов крови холодной плазмой. В данной установке использовали холодную плазму, генерированную за счет воздействия СВЧ-излучения на поток гелия в аппарате собственной конструкции, разработанном в ИПФ РАН (Нижний Новгород, Россия). Продолжительность воздействия составляла 1 и 3 мин.

Для проведения эксперимента образцы крови делили на 5 равных порций по 1,5 мл, причем первая из них являлась контрольной (с ней не осуществляли никаких манипуляций), вторую и третью обрабатывали холодной плазмой с указанными выше экспозициями, а четвертую и пятую – потоком гелия без перевода его в плазменную форму. Экспозиция по завершении воздействия составляла 10 мин. Сразу после этого из образцов цельной биологической жидкости стандартным методом центрифугирования выделяли плазму крови.

В биологической жидкости методом Fe-индуцированной биохемилюминесценции определяли светосумму хемилюминесценции, рассматриваемую в качестве критерия интенсивности перекисного окисления липидов, и параметр tg2α, служащий индикатором общей антиоксидантной активности плазмы крови [3]. Измерения проводили на аппарате БХЛ-06 («Медозонс», Россия). Уровень малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и эритроцитах оценивали по методу В.Г. Сидоркина, И.А. Чулошниковой (1993) [8].

Для изучения кристаллогенных свойств плазму крови в объеме 100 мкл наносили на предметное стекло и приготавливали микропрепараты высушенной биологической жидкости в соответствии с методом кристаллоскопии, позволяющим оценивать собственную дегидратационную структуризацию биосреды [7, 5]. Высушенные микропрепараты оценивали морфологически (путем описания особенностей структуризации высушенного образца биологической жидкости) и визуаметрически (с применением собственной системы параметров) [7, 5]. Основными визуаметрическими показателями, оцениваемыми в балльной шкале, служили кристаллизуемость (отражает количественную сторону кристаллизации – плотность кристаллических элементов в фации), индекс структурности (характеризует сложность структуропостроения), степень деструкции фации (представляет собой индикатор качественной стороны процесса – правильности образования структур) и выраженность краевой зоны микропрепарата [5].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы 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. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Результаты исследований

На первом этапе нами было проанализировано влияние холодной плазмы на процессы перекисного окисления липидов. Установлено, что обработка биологической жидкости и холодной плазмой, и неионизированным потоком гелия приводит к нарастанию светосуммы хемилюминесценции, трактуемой как показатель интенсивности липопероксидации (рис. 1). При этом второе из указанных воздействий вызывает существенно более значимые изменения рассматриваемого показателя. Следует отметить, что данная тенденция обнаруживается при обоих использованных режимах обработки.

В то же время при меньшей длительности воздействия (1 мин) применение холодной гелиевой плазмы лишь незначительно, но статистически значимо стимулировало интенсивность перекисного окисления липидов (на 16%; $p<0,05$ по сравнению с контрольным образцом). Увеличение продолжительности обработки до 3-х мин приводило к существенно более выраженной активации перекисного окисления липидов (на 41%; $p<0,05$ по отношению к интактному и обработанному холодной плазмой в течение 1 мин образцам).

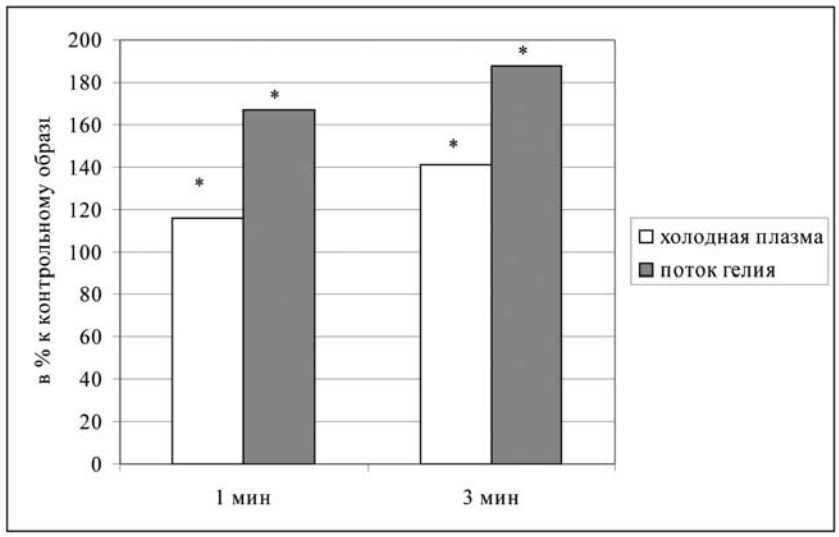

Рис. 1. Интенсивность липопероксидации плазмы крови при ее обработке холодной плазмой и гелиевым потоком. Данные представлены в % к уровню контрольного образца, принятого за 100%; * – статистическая значимость различий по отношению к последнему на уровне $p<0,05$.

Использование для обработки биологической жидкости неионизированного гелиевого потока также демонстрировало дозозависимый эффект, но при обоих режимах обеспечивало значительно более сильную активацию липопероксидации, о чем свидетельствовало увеличение светосуммы хемилюминесценции на 67 и 88% по сравнению с контрольным образцом для 1- и 3-минутного воздействия соответственно ($p<0,05$ для обоих случаев).

Иные закономерности были обнаружены для общей антиоксидантной активности плазмы крови (рис. 2). Так, при обработке биосреды холодной плазмой на протяжении 1 и 3 мин регистрировали значительное и дозозависимое нарастание параметра tg2α, характеризующего общую антиоксидантную активность биосубстрата (на 63 и 79% по сравнению с контрольным образцом соответственно; $p<0,05$ для обоих случаев). Важно подчеркнуть, что при указанных режимах воздействия имеет место превалирование прироста антиоксидантной активности над темпами увеличения интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

Напротив, влияние на цельную кровь человека потока гелия приводило к угнетению антиоксидантного потенциала биологической жидкости (на 12 и 17% при продолжительности обработки 1 и 3 мин соответственно; $p<0,05$). Это косвенно указывает на формирование признаков окислительного стресса, индуцированного контактом биосреды с неионизированным гелиевым потоком.

Эти результаты находят подтверждение и в динамике концентрации вторичного продукта липопероксидации – малонового диальдегида (рис. 3).

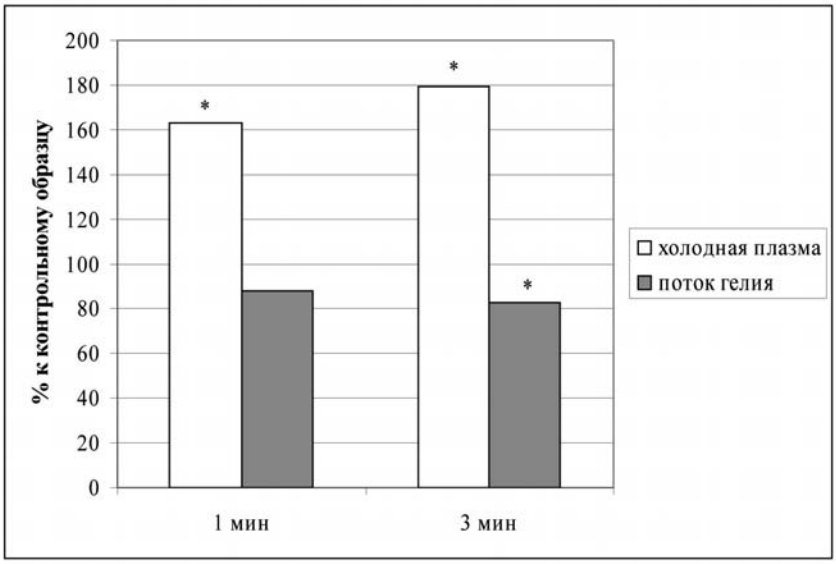

Рис. 2. Общая антиоксидатная активность плазмы крови при ее обработке холодной плазмой и гелиевым потоком. Данные представлены в % к уровню контрольного образца, принятого за 100%; * – статистическая значимость различий по отношению к последнему на уровне $p<0,05$.

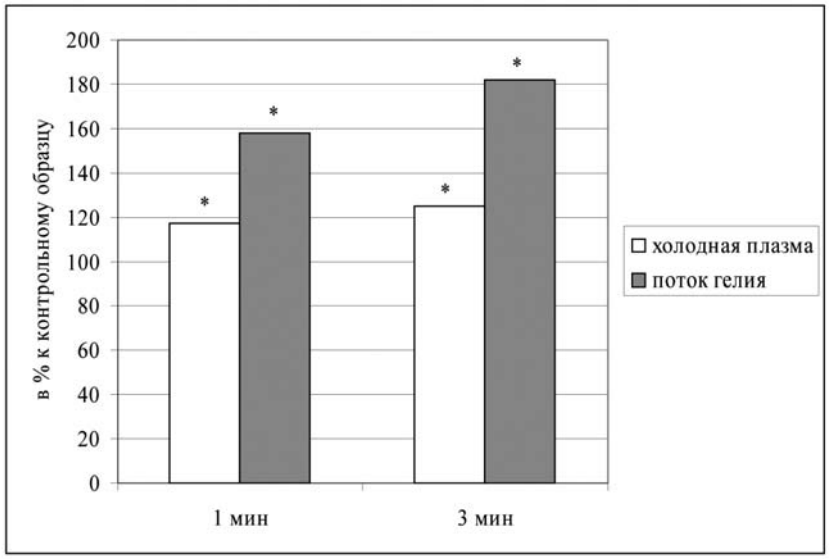

Рис. 3. Концентрация малонового диальдегида в плазме крови при ее обработке холодной плазмой и гелиевым потоком. Данные представлены в % к уровню контрольного образца, принятого за 100%; * – статистическая значимость различий по отношению к последнему на уровне $p<0,05$.

Выявлено, что обработка цельной крови холодной плазмой *in vitro* обеспечивает относительно небольшое нарастание уровня данного метаболита как при 1-мин, так и при 3-мин воздействии рассматриваемого фактора (увеличение концентрации малонового диальдегида на 17 и 25% по сравнению с образцом, с которым не проводили никаких манипуляций; $p<0,05$ для обоих случаев). В то же время применение гелиевого потока в существенно большей степени повышает концентрацию соединения в плазме крови (на 58 и 82% при длительности обработки 1 и 3 мин соответственно; $p<0,05$). Это позволяет характеризовать воздействие гелиевого потока как прооксидантное.

Оценка влияния холодной гелиевой плазмы на кристаллогенные свойства плазмы крови также позволила продемонстрировать неодинаковость эффекта данного воздействия, причем лимитирующим фактором явилась продолжительность обработки (рис. 4). Так, при обработке крови неионизированным потоком гелия в кристаллоскопических фациях плазмы крови отмечали снижение кристаллогенной активности биосреды, что проявлялось в уменьшении плотности структурных элементов по сравнению с картинами кристаллизации интактной плазмы крови человека. Кроме того, при данном воздействии имело место преимущественное образование одиночных кристаллов и единичных аморфных тел с высокой степенью деструкции. Также в этих образцах наблюдали формирование хаотичных разломов, распространяющихся практически по всему микропрепарату без изменения диаметра краевой зоны фации.

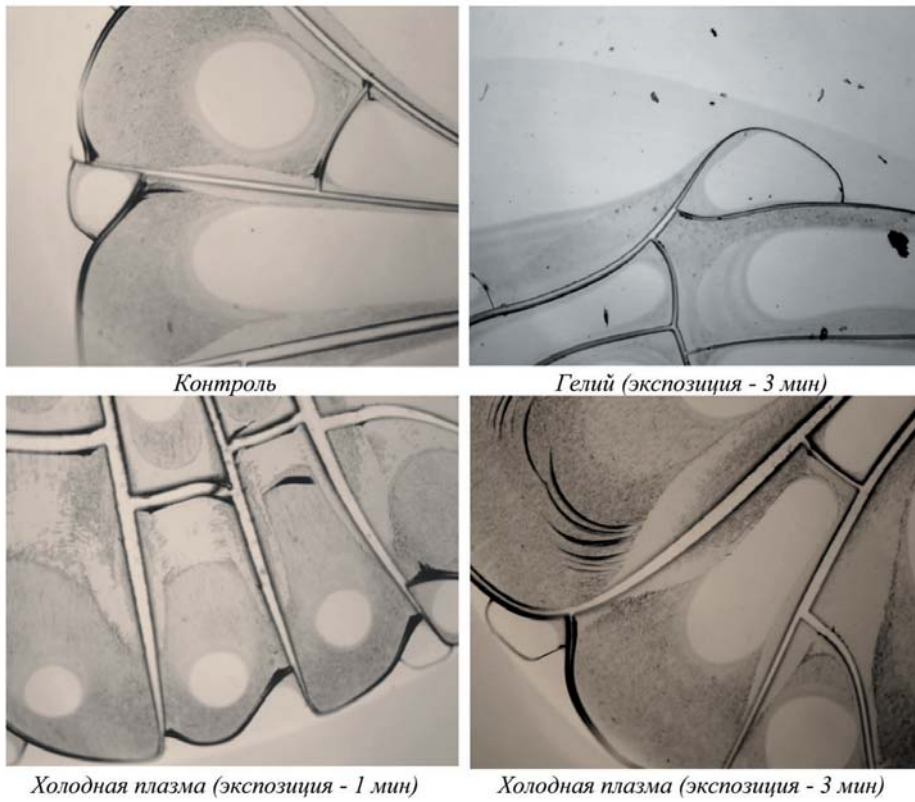

Рис. 4. Картины собственной кристаллизации сыворотки крови человека при обработке потоком холодной гелиевой плазмы (ув. х56).

Наиболее оптимальный характер дегидратационной структуризации плазмы крови зарегистрирован при обработке биосреды холодной плазмой в течение 1 мин. Выявлено, что указанный режим воздействия способствовал образованию регулярной, симметричной картины, включающей совокупность центростремительных разломов, делящих образец на практически равные отдельности. Также фиксировали значительную активацию структуризации биологической жидкости относительно контрольного образца, преимущественно реализуемую за счет увеличения плотности кристаллических элементов, среди которых встречались и дендритные (в первую очередь – в центральной зоне микропрепарата). Следует подчеркнуть, что в этом случае конфигурация структур была близка к оптимальной, а процессы их разрушения – минимально выражены. Краевая зона фаций при обработке холодной плазмой в течение 1 мин не претерпевала значительных качественных и количественных преобразований.

Увеличение продолжительности воздействия холодной гелиевой плазмой до 3-х мин оказывало менее благоприятный эффект в отношении кристаллогенных свойств биологической среды. В частности, в этих фациях обнаруживали тенденцию к умеренной хаотизации разломов, неоднородность текстуры и небольшое усложнение формируемых элементов, среди которых появляются единичные неразветвленные дендритные кристаллы. Важно, что при данном режиме обработки регистрировали повышение степени разрушенности последних, достигающее средней степени, в то время как краевая зона микропрепаратов умеренно сужается.

Результаты морфологического описания собственной кристаллизации плазмы крови при воздействии холодной гелиевой плазмы и неионизированного гелия полностью подтверждаются данными их визуаметрической оценки (рис. 5 и 6). Так, показанная выше тенденция к стимуляции кристаллогенной активности биосреды под влиянием потока холодной плазмы реализовалась в повышении кристаллизуемости и/или индекса структурности этих образцов по отношению к контрольным (рис. 5), причем выраженность данного эффекта была обратно пропорциональна продолжительности обработки. В частности, при 1-мин экспозиции отмечали существенное, статистически значимое увеличение как плотности структурных элементов фации, оцениваемой по уровню кристаллизуемости, так и сложности кристаллов, описываемой индексом структурности ($p<0,05$ по сравнению с фацией плазмы крови, на которую не оказывали никаких воздействий). При удлинении продолжительности обработки биосубстрата холодной плазмой до 3-х мин отмечали более чем двукратное повышение индекса структурности (в 2,41 раза; $p<0,05$ относительно контрольного образца).

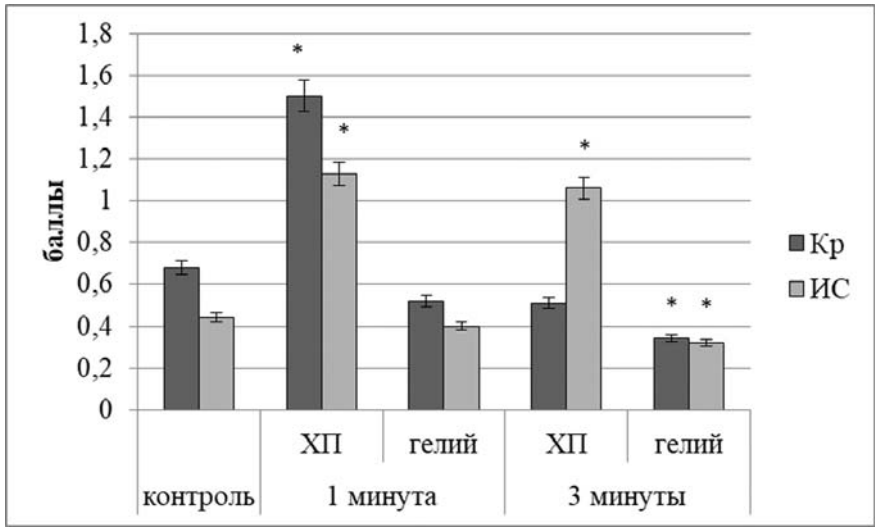

Рис. 5. Уровень кристаллизуемости (Кр) и индекса структурности (ИС) фаций плазмы крови при обработке гелиевой холодной плазмой и потоком гелия. ХП – холодная плазма; * – статистическая значимость различий по отношению к последнему на уровне $p<0,05$.

Напротив, воздействие на плазму крови человека гелиевого потока, не подвергавшегося предварительной ионизации, демонстрирует обратную тенденцию. Кратковременная обработка биосреды гелием (1 мин) не оказывала значимого модифицирующего влияния на ее кристаллогенную активность, на что указывает сохранение уровня кристаллизуемости и индекса структурности. Увеличение длительности обработки биожидкости (3 мин) усиливало ингибирующий эффект воздействия, причем в этом режиме по обоим указанным показателям наблюдали достоверное снижение значений ($p<0,05$ по сравнению с интактным образцом биологической жидкости).

По основному критерию правильности кристаллогенеза – степени деструкции фации – обнаружена монотонная тенденция нарастания уровня параметра при увеличении длительности воздействия (рис. 6). При этом сдвиги в большей степени выражены при обработке биосреды неионизированным потоком гелия. Следует отметить, что по этому показателю все образцы, подвергнутые воздействиям, демонстрируют статистически значимо повышенные значения относительно интактного ($p<0,05$). Это косвенно указывает на более оптимальную реакцию кристаллогенных свойств биожидкости на обработку холодной гелиевой плазмой по сравнению с гелиевым потоком, а также предпочтительность кратковременной обработки (1 мин).

Интегральную оценку состояния протеомного компонента плазмы крови при действии гелиевого потока, неионизированного и переведенного в плазменную форму, проводили на основании анализа выраженности краевой зоны микропрепаратов высушенной биологической жидкости (рис. 6). Установлено,

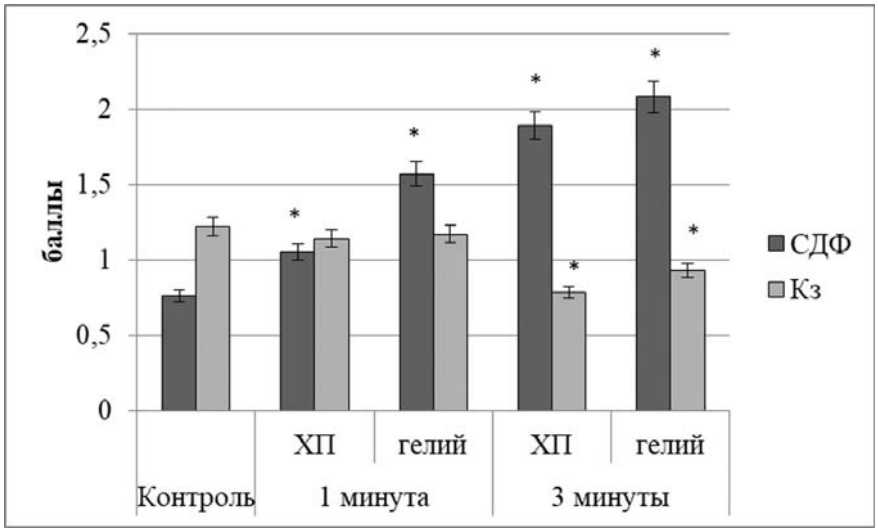

Рис. 6. Степень деструкции (СДФ) и выраженность краевоей зоны (Кз) в высушенных микропрепаратах плазмы крови при обработке гелиевой холодной плазмой и потоком гелия. ХП – холодная плазма; * – статистическая значимость различий по отношению к последнему на уровне $p<0,05$.

что оба указанных воздействия при экспозиции 1 мин не оказывают значимого влияния на данный показатель, тогда как увеличение продолжительности обработки крови до 3-х мин приводит к умеренному сужению краевого пояса дегидратированных образцов плазмы крови человека ($p<0,05$ по отношению к контрольным фациям). При этом наличие ионизации не влияет на выраженность указанной тенденции.

Обсуждение результатов

Интерес к практическим возможностям плазменной медицины, отчетливо наблюдаемый в последние десятилетия, связан с открывающимися широкими перспективами ее использования в хирургии [4, 16], стоматологии [1, 24, 18], дерматокосметологии [21, 27, 13], физиотерапии и др. С другой стороны, фактором, затрудняющим быструю трансформацию этого направления в метод практической медицины, служит недостаточно полная расшифровка биологических эффектов плазмы различного состава и способа генерации. Следует подчеркнуть, что большинство работ в рассматриваемой области посвящено изучению влияния на различные биообъекты воздушной холодной плазмы атмосферного давления [26, 11, 17, 24]. Несмотря на то, что для нее продемонстрирован ряд позитивных эффектов [4, 25], однако состав газового потока в этом случае однозначно не может быть стандартизирован [6]. Кроме того, полученные данные преимущественно касаются действия холодной плазмы на рост и морфофункциональные особенности колоний микроорганизмов [17, 10, 12], т.к. ориентированы на уточнение антибактериальной активности фактора [11, 16, 24]. Исследования, направленные на оценку влияния холодной плазмы на биосистемы более высокого уровня организации, единичны [16].

Также в отечественной и зарубежной литературе присутствуют упоминания об использовании аргоновой холодной плазмы [16, 2], однако и для этого воздействия в первую очередь тестируются антибактериальные свойства.

Наконец, в последние 5-7 лет внимание исследователей привлекает гелиевая плазма, имеющая наиболее простой компонентный состав [20, 19]. Эмпирически для нее также продемонстрирован антибактериальный эффект [19, 23], а также саногенетическая активность при ранах различного происхождения и гемостатическое действие [13]. В то же время механизмы и системные эффекты гелиевой холодной плазмы остаются слабо изученными.

В нашем исследовании на образцах цельной крови человека показано, что обработка биологической жидкости холодной гелиевой плазмой способна вызывать сдвиги окислительного метаболизма и физико-химических свойств плазмы крови, причем они определяются продолжительностью воздействия и обратно пропорциональны ему. Следует подчеркнуть, что выявленные изменения специфичны именно для плазменной формы гелия, т.к. обнаруженные модификации существенно отличаются от характерных для неионизированного газового потока. Установлено, что наиболее оптимальным является действие на кровь холодной гелиевой плазмы в течение 1 мин, о чем свидетельствуют как метаболические параметры, так и кристаллогенная активность плазмы крови, способная выступать в качестве

индикатора токсичности экзогенных соединений [9].

Заключение

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что холодная гелиевая плазма и неионизированный поток гелия оказывают модифицирующее влияние на окислительный метаболизм и кристаллогенные свойства плазмы крови при обработке *in vitro*. Для холодной гелиевой плазмы оно проявилось преимущественно в антиоксидантном эффекте и стимуляции кристаллогенной активности, тогда как у потока гелия обнаружено выраженное прооксидантное действие и способность угнетать дегидратационную структуризацию биосреды. При этом наиболее оптимальной для действия рассматриваемого фактора является 1-минутная экспозиция.

Список литературы

1. ***Алейник А.Н.*** Плазменная медицина. - Томск: Изд-во ТПУ, 2011. 45 с.
2. ***Балданов Б.Б., Ранжуров Ц.Р., Норбоев Ч.Н. и др.*** Инактивация микроорганизмов в холодной аргоновой плазме атмосферного давления // Вестник ВСГУТУ. 2015. № 4. С. 56-60.
3. ***Костюк В.А., Потапович А.И.*** Биорадикалы и биоантиоксиданты. - Минск: БГУ, 2004.
4. ***Липатов К.В., Сопромадзе М.А., Шехтер А.Б. и др.*** Применение газового потока, содержащего оксид азота (NO-терапия) в комплексном лечении гнойных ран // Хирургия. 2002. № 2. С. 41-43.
5. ***Мартусевич А.К.*** Биокристалломика в молекулярной медицине. - СПб: Издательство СПбГМУ, 2011.
6. ***Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Ванин А.Ф.*** Исследование некоторых продуктов, генерируемых медицинским аппаратом для получения NO-содержащей холодной плазмы // Медицинская физика. 2012. № 4. С. 80-86.
7. ***Мартусевич А.К., Перетягин С.П.*** Модификация дегидратационной структуризации сыворотки крови при ее обработке оксидом азота // Биофизика. 2013. Т. 58. № 6. С. 1038-1042.
8. ***Сидоркин В.Г., Чулошникова И.А.*** Метод определения МДА в эритроцитах и плазме крови с помощью тиобарбитуровой кислоты. Авторское свидетельство СССР № 1807410. 1993. Бюлл. № 13.
9. ***Ющенко А.А., Даудова А.Д., Аюпова А.К., Урляпова Н.Г.*** Использование морфоструктурной реакции сыворотки крови в токсикологической оценке лекарственных средств // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2004. № 7. С. 113-117.
10. ***Alshraiedeh N.H., Higginbotham S., Flynn P.B., et al.*** Eradication and phenotypic tolerance of Burkholderia cenocepacia biofilms exposed to atmospheric pressure non-thermal plasma // Int. J. Antimicrob. Agents. 2016. Vol. 47. Pp. 446-450.
11. ***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. Vol. 43. Pp. 154-160.
12. ***Butscher D., Zimmermann D., et al.*** Plasma inactivation of bacterial endospores on wheat grains and polymeric model substrates in a dielectric barrier discharge // Food Control. 2016. Vol. 60. Pp. 636-645.
13. ***Brun P., Pathak S., Castagliuolo I., et al.*** Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells // Plos ONE. 2014. Vol. 9. No. 8. P. e104397.
14. ***Dobrynin D., Fridman D., Friedman G., Fridman A.*** Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue // New J. Phys. 2009. Vol. 11. Pp. 1-26.
15. ***Duske K., Wegner K., Donnert M., et al.*** Comparative in vitro study of different atmospheric pressure plasma jets concerning their antimicrobial potential and cellular reaction // Plasma Process Polym. 2015. Vol. 12. Pp. 1050-1060.
16. ***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. Vol. 60. Pp. 75-83.
17. ***Flynn P.B., Busetti A., Wielogorska E., et al.*** Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. P. 26320.
18. ***Hoffmann C., Berganza C., Zhang J.*** Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology // Medical Gas Research. 2013. Vol. 3. P. 21.
19. ***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 nanoparticles // J. Cell. Mol. Med. 2016. Vol. 20. No. 9. Pp. 1737-1748.

20. ***Kim S.-M., Kim J.-I.*** Decomposition of biological macromolecules by plasma generated with helium and oxygen // J. Microbiol. 2006. Vol. 44. No. 4. Pp. 466-471.
21. ***Kong M.G., Kroesen G., Morfill G., et al.*** Plasma medicine: an introductory review // New J. Phys. 2009. Vol. 11. P. 115012.
22. ***Laroussi M.*** Low-temperature plasmas for medicine? // IEEE Trans. Plasma Sci. 2009. Vol. 37. Pp. 714-725.
23. ***Lotfy K.*** Cold atmospheric plasma and oxidative stress: reactive oxygen species vs. antioxidant // Austin Biochem. 2016. Vol. 1. No. 1. P. 1001.
24. ***Scholtz V., et al.*** Nonthermal plasma - A tool for decontamination and disinfection // Biotechnol. Adv. 2015. Vol. 33. No. 6. Pp. 1108-1119.
25. ***Shekhter A.B., Serezhenkov V.A., Rudenko T.G., et al.*** Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds // Nitric oxide. 2005. Vol. 12. Pp. 210-219.
26. ***Stoffels E., Sakiyama Y., Graves D.B.*** Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues // IEEE Trans. Plasma Sci. 2008. Vol. 36. Pp. 1441-1457.
27. ***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. Vol. 29. Pp. 257-265.

References

1. ***Aleinik A.N.*** Plazmennaya meditsina [Plasma medicine]. Tomsk: Izdatelstvo TPU, 2011. 45 p. (In Russian).
2. ***Baldanov B.B., Ranzhurov Ts.R., Norboev Ch.N., et al.*** Inaktivatsiya mikroorganizmov v kholodnoy argonovoy plazme atmosfernogo davleniya [Inactivation of microorganisms in cold argon atmospheric plasma]. Vestnik VSGUTU [Bulletin of the East-Siberian State University of Technology and Management]. 2015. No. 4. Pp. 56-60. (In Russian).
3. ***Kostyuk V.A., Potapovich A.I.*** Bioradikaly i bioantioksidanty [Bioradicals and antioxidants]. Minsk: BGU. 2004. (In Russian).
4. ***Lipatov K.V., Sopromadze M.A., Shehter A.B., et al.*** Primenenie gazovogo potoka, soderzhashhego oksid azota (NO-terapija) v kompleksnom lechenii gnojnyh ran [The use of gas flow is containing nitric oxide (NO-therapy) in complex treatment of purulent wounds]. Chirurgiya [Surgery]. 2002. No. 2. Pp. 41-43. (In Russian).
5. ***Martusevich A.K.*** Biokristallomika v molekulyarnoy meditsine [Biocrystallomics in molecular medicine]. Saint-Petersburg: Izdatelstvo SPbGMU. 2011. (In Russian).
6. ***Martusevich A.K., Peretjagin S.P., Vanin A.F.*** Issledovanie nekotoryh produktov, generiruemyh medicinskim apparatom dlja poluchenija NO-soderzhashhej holodnoj plazmy [Study of some products is generating with medical device for producing of NO-containing cold plasma]. Meditsinskaya fizika [Medical Physics]. 2012. No. 4. Pp. 80-86. (In Russian).
7. ***Martusevich A.K., Peretyagin S.P.*** Modifikatsiya degidratatsionnoy strukturizatsii syvorotki krovi pri ee obrabotke oksidom azota [Modification of dehydration structurization of blood serum under its processing with nitric oxide]. Biophysics. 2013. Vol. 58. No. 6. Pp. 1038-1042. (In Russian).
8. ***Sidorkin V.G., Chuloshnikova I.A.*** Metod opredeleniya MDA v eritrotsitakh i plazme krovi s pomoshch'yu tiobarbiturovoy kisloty [Method of estimation of malonic dialdehyde in erythrocyte and blood plasma with thiobarbituric acid]. Patent of USSR No. 1807410. 1993. Bulletin No. 13. (In Russian).
9. ***Yushchenko A.A., Daudova A.D., Ayupova A.K., Urlyapova N.G.*** Ispol'zovanie morfostrukturnoy reaktsii syvorotki krovi v toksikologicheskoy otsenke lekarstvennykh sredstv [The use of morphostructural response ofblood serum in toxicological estimation of drugs]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]. 2004. No. 7. Pp. 113-117. (In Russian).
10. ***Alshraiedeh N.H., Higginbotham S., Flynn P.B., et al.*** Eradication and phenotypic tolerance of Burkholderia cenocepacia biofilms exposed to atmospheric pressure non-thermal plasma. Int. J. Antimicrob. Agents. 2016. Vol. 47. Pp. 446-450.
11. ***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. Vol. 43. Pp. 154-160.
12. ***Butscher D., Zimmermann D., et al.*** Plasma inactivation of bacterial endospores on wheat grains and polymeric model substrates in a dielectric barrier discharge. Food Control. 2016. Vol. 60. Pp. 636-645.
13. ***Brun P., Pathak S., Castagliuolo I., et al.*** Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells. Plos ONE. 2014. Vol. 9. No. 8. P. e104397.
14. ***Dobrynin D., Fridman D., Friedman G., Fridman A.*** Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. New J. Phys. 2009. Vol. 11. Pp. 1-26.

15. ***Duske K., Wegner K., Donnert M., et al.*** Comparative in vitro study of different atmospheric pressure plasma jets concerning their antimicrobial potential and cellular reaction. Plasma Process Polym. 2015. Vol. 12. Pp. 1050-1060.
16. ***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. Vol. 60. Pp. 75-83.
17. ***Flynn P.B., Busetti A., Wielogorska E., et al.*** Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. Sci. Rep. 2016. Vol. 6. P. 26320.
18. ***Hoffmann C., Berganza C., Zhang J.*** Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. Medical Gas Research. 2013. Vol. 3. P. 21.
19. ***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 nanoparticles. J. Cell. Mol. Med. 2016. Vol. 20. No. 9. Pp. 1737-1748.
20. ***Kim S.-M., Kim J.-I.*** Decomposition of biological macromolecules by plasma generated with helium and oxygen. J. Microbiol. 2006. Vol. 44. No. 4. Pp. 466-471.
21. ***Kong M.G., Kroesen G., Morfill G., et al.*** Plasma medicine: an introductory review. New J. Phys. 2009. Vol. 11. P. 115012.
22. ***Laroussi M.*** Low-temperature plasmas for medicine? IEEE Trans. Plasma Sci. 2009. Vol. 37. Pp. 714-725.
23. ***Lotfy K.*** Cold atmospheric plasma and oxidative stress: reactive oxygen species vs. antioxidant. Austin Biochem. 2016. Vol. 1. No. 1. P. 1001.
24. ***Scholtz V., et al.*** Nonthermal plasma - A tool for decontamination and disinfection. Biotechnol. Adv. 2015. Vol. 33. No. 6. Pp. 1108-1119.
25. ***Shekhter A.B., Serezhenkov V.A., Rudenko T.G., et al.*** Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds. Nitric oxide. 2005. Vol. 12. Pp. 210-219.
26. ***Stoffels E., Sakiyama Y., Graves D.B.*** Cold atmospheric plasma: charged species and their interactions with cells and tissues. IEEE Trans. Plasma Sci. 2008. Vol. 36. Pp. 1441-1457.
27. ***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. Vol. 29. Pp. 257-265.

The influence of helium cold plasma on metabolic and physical-chemical parameters of human blood *in vitro*

A.K. Martusevich, A.G. Soloveva, S.Yu. Krasnova, D.V. Yanin, A.G. Galka, A.V. Kostrov

The aim of the study was comparative estimation of the changes of oxidative metabolism and crystallogenic properties of blood plasma under processing with cold helium plasma and non-ionized helium flow. We studied the influence of microwave-generating cold plasma on the specimens of whole human blood. The exposure time was 1 and 3 min. Before processing all blood specimens were divided into 5 portions. First portion was control (without any manipulations), second and third portion were treated with cold plasma, fourth and fifth ones were sparged with non-ionized helium flow. In all portions we estimated the parameters of oxidative metabolism and crystallogenic activity. It was stated that cold helium plasma and non-ionized helium modified these parameters under blood processing in vitro. For cold helium plasma this effect was realized by stimulation of antioxidant activity and crystallogenic properties of blood plasma. In opposite, non-ionized helium flow had prooxidant effect and demonstrated the inhibition of biological fluid crystallization. Our data showed that most optimal time for blood processing with cold plasma is 1 min.

Key words: cold plasma, biological effects, blood plasma, oxidative metabolism, crystallogenic properties.