УДК 537.523

DOI: 10.21779/2542-0321-2017-32-3-29-38

Н.А. Ашурбеков, З.М. Исаева, Г.Ш. Шахсинов

**Плазменный источник на основе наносекундного скользящего разряда
для биомедицинских приложений**

Дагестанский государственный университет; Россия, 367001, г. Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43а; nashurb@mail.ru

Рассмотрены физические основы взаимодействия низкотемпературной плазмы с биологическими средами и биологическими тканями. Систематизированы основные факторы воздействия плазмы на биологические объекты и на основе такого анализа предложен источник низкотемпературной плазменной струи в смеси инертных газов с воздухом при атмосферном давлении газа. Описана конструкция плазменного источника и приведены экспериментальные результаты исследования пространственной структуры плазменной струи.

Ключевые слова: *плазменная медицина, плазменная струя, наносекундный скользящий разряд.*

Введение

Газовый разряд и плазму изучают на протяжении более чем ста лет при участии большого числа выдающихся ученых большинства развитых стран мира. Начиная примерно с середины двадцатого столетия на основе теоретических и экспериментальных исследований плазмы стали разрабатываться различные плазменные устройства и плазменные технологии. За прошедшие 50–60 лет газоразрядная плазма стала частью мощной индустрии, включающей в себя такие промышленные разработки, как плазменные и газовые лазеры, мощные газоразрядные источники УФ излучения, электродуговая сварка, плазменная резка, нанесение защитных покрытий, травление подложек для создания микросхем, плазменные экраны и др.

За последние 10–20 лет плазму активно стали применять в биологических и медицинских исследованиях. Были положены основы нового междисциплинарного прикладного научного направления, которое получило название «плазменная медицина». В исследованиях в этой области принимают участие специалисты не только в области физики плазмы, но и биологии, химии, медицины. В настоящее время частично исследованы различные аспекты плазменной медицины как междисциплинарной отрасли между химией плазмы и медициной. В частности, показано, что сложные биологические процессы в живых системах можно контролировать, стимулировать, катализировать и диагностировать с использованием низкотемпературной воздушной плазмы атмосферного давления. Во многих работах экспериментальным путем было обнаружено, что плазма газового разряда может давать целенаправленный неразрушающий терапевтический эффект при стерилизации, быстром свертывании крови, заживлении ран, а также при лечении некоторых кожных заболеваний [1–10].

Однако практически все исследования, выполненные к настоящему времени в данном направлении, носят качественный характер и не содержат детального анализа физических и химико-биологических процессов взаимодействия плазмы с живыми си-

стемами. Дальнейшее развитие и внедрение этой передовой технологии в медицине требует детального понимания очень сложных физико-химических и биологических механизмов комплексного взаимодействия плазмы с биотканями, клетками, микроорганизмами и другими биологическими системами.

Цель нашего исследования – систематизация основных факторов воздействия плазмы на биологические системы. На основе накопленного мирового опыта важно разработать плазменный источник с регулируемыми характеристиками, пригодный для неразрушающего воздействия на живые системы.

1. Факторы воздействия низкотемпературной плазмы на биологические объекты: эксперимент, теоретические исследования, диагностика

Анализ и обобщение большого числа публикаций различных научных групп в области плазменной медицины [1–21] показывает, что по характеру воздействия плазмы на биологические объекты и ожидаемому результату можно выделить три большие подгруппы в современной плазменной медицине:

- непосредственное терапевтическое воздействие плазмы на биологический объект;
- стерилизация и обеззараживание медицинского оборудования;
- модификация поверхности медицинских инструментов и имплантов.

Физические механизмы взаимодействия плазмы с живыми тканями и клетками имеют уникальную природу из-за сложности состава и механизмов элементарных процессов в плазме, так и структуры биоткани и клеток, представляющих многокомпонентную среду из сложных многоатомных и биополимерных молекул. Таким образом, объединение всех механизмов взаимодействия плазмы с живой системой и построение единой теории плазменной медицины может оказаться невозможным.

В настоящее время в ряде работ представлен анализ взаимодействия различных типов разрядов, в частности диэлектрического барьерного разряда, с живыми тканями и клетками и обсуждаются различные биологические и физические механизмы воздействия плазмы на биоткань. В обсуждаемых в настоящее время физических механизмах заряженные частицы плазмы идентифицируются как основные факторы, способствующие желаемому эффекту, и предлагается механизм такого взаимодействия. Кроме того, рассматриваются биологические механизмы и выдвигается гипотеза селективности воздействия плазмы и ее эффектов в зависимости от сорта заряженных частиц. Применение неравновесных плазменных источников к биотканям показало, что плазма избирательно реагирует на патогены, стерилизацию и стимулирование сложных биологических реакций с минимальным повреждением обработанных тканей и клеток или без него. На основании экспериментальных данных с тканью человека, живыми мышами, живыми свиньями и клеточными различными млекопитающих (макрофаги, эпителиальные клетки, b-лимфоциты, фибробласты и раковые клетки меланомы) были установлены три основные гипотезы по механизмам селективного воздействия плазмы на живую систему:

1. Различный характер метаболизма клеток бактерий и клеток млекопитающих.
2. Организмы более высокого порядка развили больше механизмов сопротивления внешнему воздействию.

3. Бактериальные клетки, как правило, намного меньше, чем клетки млекопитающих, и поэтому более низкая доза внешнего воздействия требуется для инактивации того же количества бактерий по сравнению с клетками млекопитающих.

Эти гипотезы, конечно, являются вполне феноменологическими, и требуется дальнейшее детальное тестирование, чтобы получить правильное описание. Однако ряд авторов приводят доказательства в пользу этих идей, например, [2–8]. Этими авторами был представлен анализ взаимодействия диэлектрического барьерного разряда с живыми тканями и клетками и обсуждались биологические и физические механизмы. Заряженные частицы в физических механизмах были идентифицированы как основные факторы, способствующие желаемому эффекту, и был предложен механизм этого взаимодействия на основе существующих механизмов, обсуждаемых в радиобиологии. Аналогичные механизмы были предложены для плазмы высокочастотного диэлектрического барьерного разряда (ВЧБР). Кроме того, было продемонстрировано, что плазма ВЧБР оказывает биологическое воздействие на биоткани и клетки, терапевтический эффект, который потенциально может стать значимым с медицинской точки зрения и привести, например, к лечению таких заболеваний, как рак кожи. Было показано, что плазменная обработка избирательно взаимодействует с некоторыми компонентами крови для стимулирования свертывания крови путем инициации или катализа биохимических процессов, ранее существовавших в крови. Следует отметить, что «подача» реакционноспособных агентов плазмы происходит на газообразном уровне, а это означает, что нет необходимости в носителе и доступ к обрабатываемой поверхности является оптимальным.

Хотя эти результаты потенциально перспективны, многие нерешенные вопросы и пробелы в понимании механизмов воздействия плазмы на живую систему остаются. Селективность также остается открытым вопросом, где необходимо более глубокое понимание как избирательности, так и механизма взаимодействия плазмы с бактериальными и паразитарными клетками. Селективность очевидна, но ее механизмы до конца не поняты, хотя авторы представили ряд потенциальных гипотез [11–14].

Доставка медикоактивных «веществ» на молекулярном или ионном уровне – еще одно возможное направление исследований через воздействие на клеточные стенки, возбуждение клеток и введение реактивных воздействий в клеточную цитоплазму. Электрические поля, зарядка поверхностей, потоки тока и т. д. также могут влиять на ткань контролируемым образом, приводя к повышенной проницаемости клеточных стенок для доставки лекарств [13].

Анализ многочисленной периодической научной литературы в области плазменной медицины показывает (например, [1–21]), что можно выделить следующие основные физические факторы воздействия низкотемпературной плазмы на биологические среды и биоматериалы:

- электромагнитные поля и УФ излучение;
- заряженные частицы – электроны и ионы;
- кислородсодержащие радикалы (ROS: O, O₂⁻, O₃, H₂O₂). Влияние на метаболизм клеток, клеточные мембраны, окисление липидов, протеинов, ДНК;
- азотсодержащие радикалы (RNS: N, NO, NO₂, NO₃, N₂O₅). Влияние на клетки, клеточная сигнализация.

В основном роль ионов сводится к катализу окислительных процессов в присутствии кислородсодержащих радикалов. УФ излучение оказывает непосредственное антибактерицидное воздействие. Положительные и отрицательные ионы, УФ излучение, нейтральные атомы плазмы оказывают воздействие на биологический объект различными механизмами в комплексе, приводя к синергетическому эффекту. Более того, воздействие ионов может иметь и селективный характер.

2. Экспериментальная установка для получения низкотемпературной плазмы в струе газа атмосферного давления

Имеющиеся в литературе данные показывают, что для использования в медицинских целях необходимо иметь низкотемпературную плазму, в которой формировались бы кислород- и азотсодержащие радикалы, ионы, УФ излучение и достаточно высокие электрические поля. Для создания такой плазменной струи нами использован скользящий разряд в цилиндрическом плазменном волноводе, через разрядный промежуток которого пропускается гелий или аргон в присутствии воздуха атмосферного давления. В зависимости от скорости прокачки инертного газа можно регулировать процентное содержание гелия или аргона в воздухе, а также соотношение радикалов, содержащих кислород и азот как составные компоненты воздуха.

Схема использованной в данной работе разрядного устройства для получения плазменной струи представлена на рис. 1. Была использована кварцевая разрядная трубка диаметром 2 см, внутрь которой были вмонтированы два полых электрода, соприкасающихся с внутренней поверхностью диэлектрической трубки. Установка позволяла менять расстояние между электродами в пределах от 3 до 7 см. В зависимости от этого расстояния регулировались ток разряда и геометрические размеры ионизованной области. Через такую систему пропусклся инертный газ (гелий или аргон), который, смешиваясь с воздухом, формировал смесь воздуха и инертного газа, в которой возникал скользящий по внутренней поверхности трубки газовый разряд. Для формирования скользящего газового разряда использовался высоковольтный импульсный генератор, который формировал импульсы напряжения амплитудой до 40 кВ, длительностью по полувысоте около 80 нс и длительностью фронта импульса напряжения около 30 нс.

Рис. 1. Схема получения плазменного факела при атмосферном давлении в смеси воздуха и инертного газа

На разрядную трубку импульсы напряжения подавались с частотой повторения 100 Гц, что обеспечивало стабильность разряда вследствие предыонизации разрядного промежутка остаточным зарядом от предыдущих импульсов напряжения.

В качестве генератора высоковольтных импульсов напряжения был использован ГИН, собранный по трансформаторной схеме, в котором в коаксиальном исполнении были использованы первичная обмотка из 4 витков и вторичная обмотка из 12 витков, намотанных на ферритовый сердечник. Такая схема позволяла минимизировать индуктивность ГИН и тем самым обеспечивать формирование импульсов напряжения, длительностью в несколько десятков наносекунд. В качестве коммутирующего устройства был использован тиратрон с водородным наполнением с стабильностью времени срабатывания в пределах 1 нс.

Использование наносекундного разряда позволяло обеспечить формирование интенсивного УФ излучения разряда и эффективную ионизацию газа, сохраняя при этом практически комнатную температуру газа, что является обязательным требованием к плазменным источникам для применения в медицинских целях.

3. Пламенная струя на основе скользящего разряда наносекундной длительности в смеси гелия и воздуха атмосферного давления

На экспериментальной установке, описанной в предыдущем пункте, был получен плазменный факел в смеси гелия с воздухом атмосферного давления. Для этого через плазменный волновод, схематически изображенный на рис. 1, пропускался спектрально чистый гелий в режиме потока газа. Скорость потока регулировалась редуктором, установленным на газовом баллоне высокого давления.

На рис. 2 представлены распределения оптического излучения плазмы в поперечном сечении плазменного волновода внутренним диаметром 2 см, полученные в режиме формирования скользящего разряда импульсами высокого напряжения амплитудой до 40 кВ. Генератор высоковольтных импульсов напряжения позволял регулировать амплитуду импульсов напряжения ступенчато с промежуточными значениями 28 кВ, 32 кВ, 36 кВ, 40 кВ. Кроме того, регулировалась скорость истечения гелия в газовом потоке.

Рис. 2. Фотографии распределения оптического излучения плазменной струи в поперечном сечении плазменного волновода в смеси гелия с воздухом при атмосферном давлении. Амплитуда импульсов напряжения 36 кВ. 1) скорость истечения гелия низкая; 2) скорость истечения гелия увеличена в два раза

При снижении скорости истечения гелия до нуля скользящий разряд в чистом воздухе не наблюдался при использованном диапазоне амплитуды импульсов напряжения.

Ранее выполненные исследования показали, что в чистом гелии при строго цилиндрической форме полых электродов скользящий разряд прижимается к стенке диэлектрической трубки в узкой области толщиной менее 1 мм. Размер этой ионизованной области определяется длиной энергетической релаксации ускоренных электронов и возрастает при снижении давления газа [22].

В настоящей работе форму полого электрода специально выбирали профилированной, чтобы образовались газовые области между электродом и диэлектрической стенкой разрядной трубки. Для экспериментов, приведенных на рис. 2, были использованы три области, схематически представленные на рис. 3.

Рис. 3. Схематическое изображение формы полого электрода для получения скользящего разряда

Такая конфигурация позволяла расширить область ионизации газа между электродом и диэлектрической стенкой разрядной трубки. Таким образом был получен плазменный факел, состоящий из трех струй плазмы с более высокой степенью ионизации. Эти области видны на рис. 2 как более яркие области свечения ионизованного газа.

Оцифровка распределения оптического излучения плазменной струи в поперечном сечении плазменного волновода с помощью пакета программ Mathcad-15 показывает наличие ярко выделенных трех пространственных компонент плазменной струи (рис.4). Соотношение интенсивностей компонент плазменной струи зависит от скорости прокачки гелия через воздушную среду в разрядной трубке, амплитуды импульсов напряжения и профиля электродов.

Рис. 4. Пространственное распределение оптического излучения в плазменной струе, соответствующее оптическим картинкам, представленным на рис. 2

До сих пор моделирование на атомных масштабах фокусировалось на явлении электропорации, взаимодействии различных типов плазмы с липидами, ДНК и другими биомолекулами, а также взаимодействии разных модификаций плазмы с водой. С появлением более точных сведений о конкретных биотканях и постоянно увеличивающейся скоростью вычислений могут быть решены новые задачи, такие, как взаимодействие азотсодержащих радикалов RNS с биомолекулами или электропорация более сложных и более реалистичных клеточных мембран. Кроме того, макромасштабное моделирование применялось для анализа процессов распространения электрических полей через клетки и ткань. Здесь также можно ожидать более высокий уровень точности в будущем, например принимая во внимание всю сложность, связанную с постоянным облучением, или дифференцируя типы клеток в биотканях. Поскольку и реалистичность численного моделирования, и его масштаб будут только возрастать в будущем, можно ожидать, что эти проявления станут незаменимым инструментом в изучении процессов в плазменной медицине, раскрытии механизмов и обеспечении предсказуемости новых эффектов, которые трудно получить иначе.

Численное моделирование на молекулярном или атомном уровне с использованием начальных значений, полученных экспериментальным путем, может быть очень полезным в плазменной медицине. В настоящее время применяются различные подходы моделирования атомных и молекулярных масштабов, которые могут быть использованы для изучения прямого взаимодействия плазмы на биомолекулы или последствий этих взаимодействий для биомолекул в несколько более длительной временной шкале. Конкретные примеры моделирования разобраны для трех важных типов биомолекул, присутствующих в клетках человека: белков, ДНК и фосфолипидов, обнаруженных в клеточной мембране. Результаты показывают, что каждый из этих подходов моделирования имеет свои специфические преимущества и ограничения и особенно полезен для определенных приложений. Поэтому многоуровневый подход является наиболее подходящим для получения глобальной картины взаимодействий плазмы и биомолекулы.

Выполненные численные расчеты для плазменной струи показывают, что при приближении стримера к пораженной части биоткани электрическое поле внутри стримера (на мембране) достигает величины 170 кВ/см. При таких полях наблюдается электропорация клеточных мембран.

Из теоретических расчетов видно, что при атмосферном давлении воздуха геометрический размер области релаксации плазменной струи составляет примерно 1,5 см и на этом расстоянии плотность плазмы снижается примерно на порядок (с 10^{14} см^{-3} до величины примерно 10^{13} см^{-3}). Кроме того, расчеты показывают, что время релаксации различных компонент активных частиц плазмы оказывается разным. В частности, если ионы кислорода и соединение ОН релаксируются быстро, то плотность азотсодержащих радикалов наоборот практически не меняется на расстоянии 1,5 см [21]. Это указывает на то, что в свободно расширяющейся плазме струи необходимо учитывать различные ионно-молекулярные процессы, в результате которых меняется ионный и газовый состав плазменной струи вследствие физико-химических процессов с участием ионов и молекул.

В заключение отметим, что экспериментальные исследования и численное моделирование показывают, что плазма может оказывать на биологический объект селективное терапевтическое и антибактерицидное воздействие. В статье разработана и ис-

следована газоразрядная система формирования струи низкотемпературной плазмы на основе скользящего импульсного разряда в потоке смеси газов гелий-воздух, что обеспечивает формирование УФ излучения, ионов, кислород- и азотсодержащих радикалов, необходимых для эффективного воздействия на биообъект. Показано, что путем изменения профиля электрода можно формировать плазменную струю, состоящую из нескольких компонент, и тем самым регулировать плотность плазмы.

Литература

1. Fridman G., Friedman G., Gutsol A., Shekhter A.B., Vasilets V.N., Fridman A. Applied plasma medicine // *Plasma Processes and Polymers*. – 2008. – V. 5, № 6. – P. 503–533.
2. Staak D., Farouk B., Gutsol A., Fridman A. Characterization of a dc atmospheric pressure normal glow discharge // *Plasma Sources Sci. Technol.* – 2005. – V. 14, № 4. – P. 700–711.
3. Neyts E.C. et al. Computer simulations of plasma–biomolecule and plasma–tissue interactions for a better insight in plasma medicine // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2014. – V. 47, № 14. – P. 293001.
4. Nosenko T., Shimizu T., Morfill G. Designing plasmas for chronic wound disinfection // *New Journal of Physics*. – 2009. – V. 11, № 11. – P. 115013.
5. Morfill G.E., Kong M.G., Zimmermann J.L. Focus on Plasma Medicine // *New Journal of Physics*. – 2009. – V. 11, № 11. – P. 115011.
6. Neyts E.C., Yusupov M., Verlaet C.C., Bogaerts A. Computer simulations of plasma–biomolecule and plasma–tissue interactions for a better insight in plasma medicine // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2014. – V. 47, № 29. – P. 293001.
7. Nie Q., Cao Z., Ren C.S., Wang D.Z., Kong M.G. A two-dimensional cold atmospheric plasma jet array for uniform treatment of large-area surfaces for plasma medicine // *New Journal of Physics*. – 2009. – V. 11, № 11. – P. 115015.
8. Kong M.G., Kroesen G., Morfill G., Nosenko T., Shimizu T., van Dijk J. et al. Plasma medicine: an introductory review // *New Journal of Physics*. – 2009. – V. 11, № 11. – P. 115012.
9. Yan D., Nourmohammadi N., Talbot A., Sherman J.H., Keidar M. The strong anti-glioblastoma capacity of the plasma-stimulated lysine-rich medium // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2016. – V. 49, № 27. – P. 274001.
10. Dolci L.S., Liguori A., Merlettini A., Calzà L., Castellucci M., Gherardi M. et al. Antibody immobilization on poly(L-lactic acid) nanofibers advantageously carried out by means of a non-equilibrium atmospheric plasma process // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2016. – V. 49, № 27. – P. 274003.
11. Oh J.-S., Szili E.J., Gaur N., Hong S.-H., Furuta H., Kurita H. et al. How to assess the plasma delivery of RONS into tissue fluid and tissue // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2016. – V. 49, № 30. – P. 304005.
12. Kartaschew K., Baldus S., Mischo M., Bründermann E., Awakowicz P., Havenith M. Cold atmospheric-pressure plasma and bacteria: understanding the mode of action using vibrational microspectroscopy // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2016. – V. 49, № 37. – P. 374003.

13. *Aboubakr H.A., Gangal U., Youssef M.M., Goyal S.M., Bruggeman P.J.* Inactivation of virus in solution by cold atmospheric pressure plasma: identification of chemical inactivation pathways // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2016. – V. 49, № 20. – P. 204001.
14. *Boekema B.K.H.L., Vlig M., Guijt D., Hijnen K., Hofmann S., Smits P. et al.* A new flexible DBD device for treating infected wounds: in vitro and ex vivo evaluation and comparison with a RF argon plasma jet // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2015. – V. 49, № 4. – P. 044001.
15. *Bogaerts A., Khosravian N., Van der Paal J., Verlack C.C.W., Yusupov M., Kamaraj B. et al.* Multi-level molecular modelling for plasma medicine // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2015. – V. 49, № 5. – P. 054002.
16. *Ishaq M., Bazaka K., Ostrikov K.* Pro-apoptotic NOXA is implicated in atmospheric-pressure plasma-induced melanoma cell death // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2015. – V. 48, № 46. – P. 464002.
17. *Kaushik N.K., Kaushik N., Min B., Choi K.H., Hong Y.J., Miller V. et al.* Cytotoxic macrophage-released tumour necrosis factor-alpha (TNF - α) as a killing mechanism for cancer cell death after cold plasma activation // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2016. – V. 49, № 8. – P. 084001.
18. *Kelly S., Golda J., Turner M.M., Schulz-von der Gathen V.* Gas and heat dynamics of a micro-scaled atmospheric pressure plasma reference jet // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2015. – V. 48, № 44. – P. 444002.
19. *Katz J., Gershman S., Belkind A.* Optical Emission Spectroscopy and Contact Angle Study of Plasma Cleaning of Titanium Alloy Surfaces: Argon Plasma // *Plasma Medicine.* – 2015. – V. 5, № 2–4. – P. 223–236.
20. *Song K., Li G., Ma Y.* A Review on the Selective Apoptotic Effect of Nonthermal Atmospheric-Pressure Plasma on Cancer Cells // *Plasma Medicine.* – 2014. – V. 4, № 1–4. – P. 193–209.
21. *Lu X., Naidis G.V., Laroussi M., Ostrikov K.* Guided ionization waves: Theory and experiments // *Physics Repots.* – 2014. – V. 540, № 3. – P. 123–166.
22. *Ashurbekov N.A., Iminov K.O., Shakhsinov G.Sh., Ramazanov A.R.* The role of high-energy electrons during formation of nonstationary optical emission and transition spectra of plasma behind the edge of high – velocity ionization wave // *High Temperature.* – 2015. – V. 53, № 5. – P. 627–637.

Поступила в редакцию 11 июля 2017 г.

UDC 537.523

DOI: 10.21779/2542-0321-2017-32-3-29-38

Plasma Source Based on Nanosecond Sliding Discharge for Biomedical Applications

N.A. Ashurbekov, Z.M. Isaeva, G.Sh. Shakhsinov

Dagestan State University; Russia, 367001, Makhachkala, M. Gadzhiev st., 43a; nashurb@mail.ru

The physical basis for the interaction of low-temperature plasma with biological media and biological tissues is considered. The main factors of the plasma impact on biological objects are systematized. Based on this analysis, a source of a low-temperature plasma jet in a mixture of inert gases with air at atmospheric pressure of the gas is proposed. The design of a plasma source is described and experimental results of an investigation of the plasma jet spatial structure are presented.

Keywords: *plasma medicine, plasma jet, nanosecond sliding discharge.*

Received 11 July, 2017