

04;14

Разработка и применение устройства генерации холодной плазмы атмосферного давления для лечения повреждений кожи и мягких тканей животных

© О.А. Емельянов¹, Н.О. Петрова^{2,3}, Н.В. Смирнова^{1,4},
М.В. Шемет¹

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

² Биотехнологическая компания „Биокад“, Санкт-Петербург

³ КСК „Осиновая роща“, Санкт-Петербург

⁴ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

E-mail: oaemel2@gmail.com

Поступило в Редакцию 30 декабря 2016 г.

Описано устройство для получения холодной плазмы атмосферного давления в воздухе с использованием игольчатой системы электродов положительной полярности. Генерация плазмы обеспечивается развитием импульсного периодического разряда наносекундной длительности, амплитуда импульсов тока составляет 10–20 мА при характерных частотах 10–20 кГц и уровнях приложенного напряжения 8–20 кВ. Высокая эффективность разработанной методики подтверждается клиническими результатами лечения травматологических патологий крупных сельскохозяйственных животных.

DOI: 10.21883/PJTF.2017.16.44930.16627

Получение и применение холодной плазмы атмосферного давления (cold atmospheric plasma, CAP) открыли в последние 5–10 лет новые горизонты использования плазмы в биологии и медицине. Отличительной особенностью холодной плазмы является низкая энергия электронов ($\sim 1-3$ eV), при этом неравновесность плазмы характеризуется низкой температурой ионов и рабочего газа ($< 40^\circ\text{C}$), что позволяет использовать плазму для воздействия непосредственно на живые клетки и ткани. Для биомедицинских приложений основными источ-

никами генерации САР служат различные формы тлеющего разряда атмосферного давления: APGD (atmospheric pressure glow discharge), ВЧ-микроразряды (atmospheric-pressure RF plasma microdischarges), барьерные разряды (dielectric-barrier discharges) и коронные разряды (corona discharges) [1,2]. Основными факторами воздействия плазмы на объект являются электромагнитное поле, УФ-излучение, заряженные частицы (электроны и ионы) и активные нейтральные частицы. В воздушной среде генерируются главным образом активные формы кислорода и азота (reactive oxygen species, reactive nitrogen species), такие как перекись водорода (H_2O_2), гидроксильные радикалы (OH^-), синглетный кислород (1O_2), различные окислы азота NO, NO_2 и др.) [3]. Таким образом, эффекты применения САР обусловлены взаимодействием компонентов плазмы со специфическими структурными элементами и функциями живых клеток в системах как *in vitro*, так и *in vivo*. Свойства САР позволяют работать непосредственно с живой тканью (санировать раны, использовать этот подход для борьбы с патогенной микрофлорой в гинекологии, отоларингологии, стоматологии и др.). Доказанным преимуществом использования холодной плазмы в травматологии и хирургии является ее способность ускорять процесс образования кровяного сгустка, т.е. гемостатический эффект. Также показано, что плазменное воздействие стимулирует процессы тканевой регенерации путем активации иммунных клеток и фибробластов кожи. В результате этого увеличивается выработка коллагена, а также происходит уменьшение площади раны путем стягивания ее краев. В настоящее время доказано, что холодная плазма может эффективно применяться не только для бесконтактной стерилизации и ускорения заживления ран, но и при лечении рака (замедления роста опухолей и метастазирования) [1,2,4]. Данная область знаний является относительно новой. Например, число публикаций, посвященных плазменной обработке раковых опухолей, стало резко увеличиваться лишь в последние пять лет [4]. Все эти многочисленные эффекты делают возможным использование установок, генерирующих холодную плазму, в качестве эффективных реабилитационных средств при реконструкции сложных глубоких инфицированных дефектов кожи и мягких тканей (ран, свищей, трофических язв, открытых переломов), ожогов, кожных заболеваний (дерматитов, экзем, лишая).

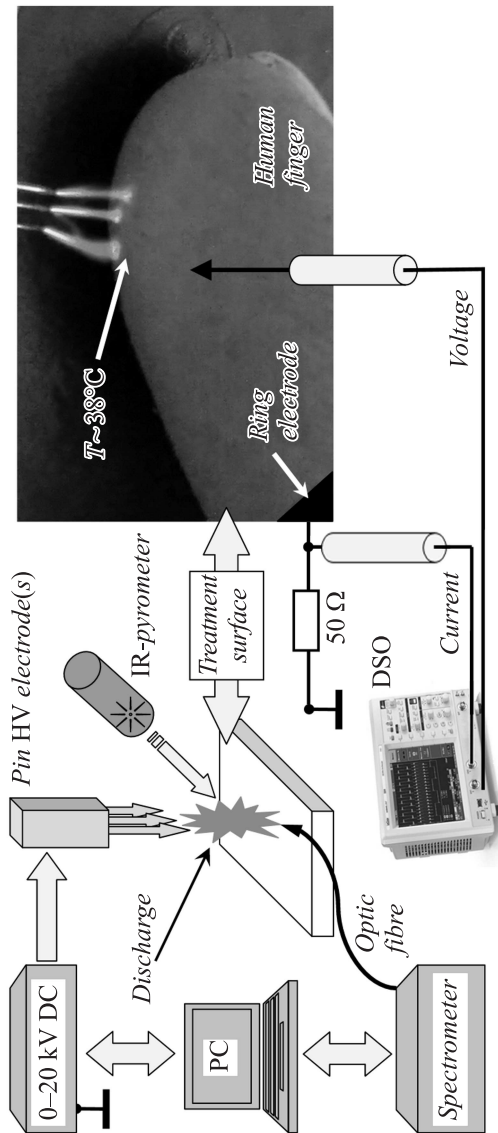


Рис. 1. Блок-схема экспериментальной установки.

В отличие от ряда известных типов источников плазмы [5–7] в настоящей работе описан метод генерации САР в воздухе с использованием игольчатой системы электродов положительной полярности в условиях развития периодического разряда наносекундной длительности, при этом осуществляется непосредственное (прямое) воздействие плазмы на обрабатываемую поверхность. Упрощенная блок-схема экспериментальной установки представлена на рис. 1. Для реализации совместной генерации плазменных струй в случае многоигольчатых систем (рис. 1) учитывались особенности формирования многоострийного коронного разряда [8].

Постоянное напряжение величиной $U = 8–20$ kV прикладывалось к стальной игле (или системе игл) через высокоомное (> 50 M Ω) балластное сопротивление. При этом касание иглой или генерируемой плазмой поверхности живого объекта было безопасным с точки зрения возможности поражения электрическим током. Радиус закругления игл составлял ~ 40 μ m. Генерация плазмы осуществлялась в результате развития импульсного стримерного разряда в воздушном зазоре ($d = 3–10$ mm) между иглой и поверхностью обрабатываемого объекта. В процессе плазменной обработки осуществлялась регистрация разрядного тока I_d с помощью малоиндуктивного шунта 50 Ω , подключенного последовательно с обрабатываемым объектом. Дополнительно определялось изменение потенциала φ_x на поверхности обрабатываемого объекта в точках, находящихся на различном удалении (x) от области касания разрядом поверхности объекта. Значения потенциала на шунте и поверхности объекта измерялись с помощью осциллографа LeCroy WJ-322 (2 GS/s). Следует отметить, что измерение потенциала поверхности объекта не оказывало существенного влияния на разрядный процесс.

На рис. 2 представлены типичные осциллограммы импульсов тока разряда I_d и потенциала $\varphi_x = 2$ mm (в 2 mm от разряда) для случая одноигольчатой системы, $d = 1$ cm, $U = 15$ kV, когда в качестве объекта обработки выступал палец человека. Из осциллограмм видно, что разряд имел периодический характер. В диапазоне исследуемой амплитуды прикладываемого напряжения $8–20$ kV частота процесса составляла $10–20$ kHz, амплитуда разрядных импульсов тока $10–20$ mA, длительность полуширины импульсов $50–100$ ns. Характеристики полученных импульсных разрядов близки к параметрам APGD, относительно недавно изученных в [9]. Контроль температуры объекта осуществлялся

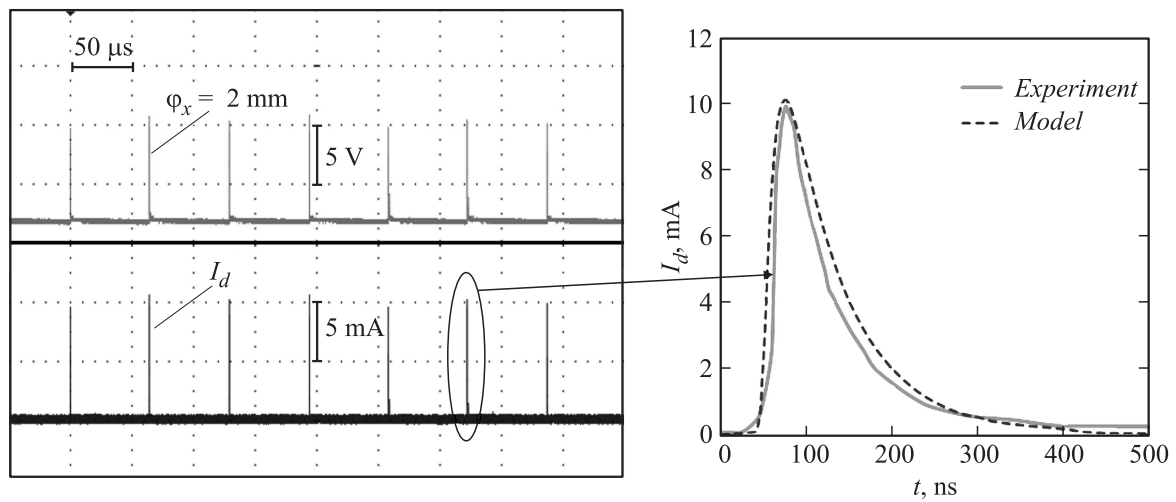


Рис. 2. Типичные осциллограммы импульсов тока разряда I_d и потенциала $\varphi_x = 2$ mm на поверхности пальца в 2 mm от зоны касания разряда (одноигльчатая система, $d = 1$ cm, $U = 15$ kV). На вставке представлено сравнение экспериментально измеренного импульса тока I_d с результатами моделирования.

бесконтактно с помощью пирометра OPTRIS LaserSight, который характеризовался спектральным диапазоном измерения 8–14 μm , временем отклика 150 ms и размером зоны измерения 1 mm^2 . В зависимости от амплитуды и частоты импульсов разрядного тока температура поверхности находилась в диапазоне 35–80°C. Исследование спектрального состава генерируемой плазмы производилось с помощью спектрометра Avantes AvaSpec-2048XL в диапазоне 200–1150 nm (оптическое разрешение не менее 0.2 nm). В зарегистрированных спектрах наиболее интенсивные линии были обнаружены в диапазоне 300–400 nm, что соответствует второй положительной системе азота N_2 .

Для моделирования исследуемого процесса была разработана эквивалентная схема замещения, учитывающая электрофизические параметры экспериментальной установки, разряда и объекта обработки. Частотные зависимости импеданса, полученные с помощью анализаторов иммитанса Hioki IM3570 и Hioki IM3533 в диапазоне 0.1 Hz–5 MHz, находились в хорошем согласии с известными литературными данными [10]. На вставке к рис. 2 представлено сравнение экспериментально измеренного импульса тока разряда I_d с результатами моделирования.

Эффективность и удобство использования разработанной методики подтверждаются экспериментальными результатами при лечении травматологических патологий крупных сельскохозяйственных животных. В ветеринарии тема борьбы с патогенной микрофлорой при лечении хирургических патологий является даже более актуальной, чем в медицине человека. Зачастую применение антибиотиков при лечении животных связано с наступлением неблагоприятных побочных эффектов и даже летальностью. А в случае лечения ран в силу особенностей животных обработка ран и наложение повязок затруднены. В этом контексте особенно ценна технология, позволяющая не допустить инфицирования раны или в случае, если это произошло, быстро и эффективно санировать зону повреждения. Одновременно важно стимулировать процессы тканевой регенерации, добиться заживления максимально быстро, без патологических грануляции и рубцевания.

Для ограниченного клинического исследования были отобраны пять лошадей с повреждениями кожи и мягких тканей конечностей. Все клинические случаи характеризовались:

- значительным микробным загрязнением раны;
- значительным по размерам дефектом кожных покровов;

3* Письма в ЖТФ, 2017, том 43, вып. 16

- наличием в ране гематомы;
- наличием некротических тканей;
- неблагоприятным общим состоянием организма.

Наблюдались низкие динамика и эффективность заживления с помощью традиционных способов лечения (местное применение антисептиков, наложение стерильных повязок с ранозаживляющими препаратами). Бактериологические посевы выявили, что раны были инфицированы золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*), *Staphylococcus epidermis*, *Enterococcus mundtii*, кишечной палочкой (*Escherichia coli*), плесневыми грибами *Aspergillus fumigatus* и *Rhizopus sp.* Лечение ран с помощью проведения плазменной терапии осуществлялось раз в неделю в виде монотерапии (не использовались дополнительная местная обработка антисептиками и наложение стерильных повязок с ранозаживляющими препаратами). Продолжительность воздействия зависела от площади раневого дефекта, но не превышала 10–15 min. Для полного заживления ран было необходимо по два-три раунда терапии. Усредненные данные динамики лечения с помощью плазменной терапии свидетельствовали о полном отсутствии гнойных осложнений у животных начиная с первого раунда терапии. Первая неделя лечения характеризовалась очищением раны от гнойных масс и умеренной грануляцией, на второй неделе наблюдались процессы эпителизации и частичное смыкание краев раны, третья неделя характеризовалась полным заживлением ран.

За последние годы в литературе появилось достаточно много работ, описывающих применение холодной плазмы для решения медико-биологических задач. Однако бóльшая их часть посвящена использованию холодной плазмы для воздействия на клетки *in vitro* (на различные штаммы бактерий, грибы и вирусы). Вместе с тем число исследований, демонстрирующих эффективность воздействия в рамках реальной сложной патологии, крайне мало. По мнению авторов, аналоги разработанного устройства генерации холодной плазмы в воздухе не применялись для лечения травматологических патологий крупных сельскохозяйственных животных. Применение разработанной методики обладает рядом преимуществ, к которым можно отнести безболезненность и атравматичность воздействия, значительное ускорение заживления операционных и травматических повреждений, практически полное отсутствие воспалительных процессов в обработанных плазмой ранах, отсутствие побочных эффектов.

Список литературы

- [1] *Kong M.G., Kroesen G., Morfill G.* et al. // *New J. Phys.* 2009. V. 11. P. 115012 (1–35).
- [2] *Fridman A., Friedman G.* *Plasma Medicine.* John Wiley & Sons, 2013. 545 p.
- [3] *Sysolyatina E., Mukhachev A., Yurova M.* et al. // *Plasma Process. Polym.* 2014. V. 11. P. 315–334.
- [4] *Keidar M.* // *Plasma Sources Sci. Technol.* 2015. V. 24. P. 033001 (1–20).
- [5] *Golda J., Held J., Redeker B.* // *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2016. V. 49. P. 084003 (1–11).
- [6] *Winter J., Brandenburg R., Weltmann K.-D.* // *Plasma Sources Sci. Technol.* 2015. V. 24. P. 064001 (1–19).
- [7] *Соснин Э.А., Панарин В.А., Скакун В.С.* и др. // *ЖТФ.* 2016. Т. 86. В. 5. С. 151–154.
- [8] *Pei X., Lu X., Liu J.* et al. // *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2012. V. 45. P. 165205 (1–5).
- [9] *Pai D.Z., Lacoste D.A., Laux C.O.* // *J. Appl. Phys.* 2010. V. 107. P. 093303 (1–15).
- [10] *Chen C., Liu D.X., Liu Z.C.* et al. *Plasma Chem. Plasma Process.* 2014. V. 34. P. 403–441.