

Для цитирования: Зиннурова А.Б., Воробьев К.П., Бакина О.В., Сенькина Е.И., Спирина Л.В., Носарева О.Л., Жаворонок Т.В. *In vitro* биохимические особенности применения холодной плазмы в клетках экспериментального рака молочной железы MCF-7. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(6): 89–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-6-89-96
For citation: Zinnurova A.B., Vorobyev K.P., Bakina O.V., Senkina E.I., Spirina L.V., Nosareva O.L., Zhavoronok T.V. *In vitro* biochemical features of cold plasma application in MCF-7 experimental breast cancer cells. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(6): 89–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-6-89-96

IN VITRO БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ В КЛЕТКАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ MCF-7

А.Б. Зиннурова¹, К.П. Воробьев¹, О.В. Бакина^{1,2}, Е.И. Сенькина²,
Л.В. Спирина¹, О.Л. Носарева¹, Т.В. Жаворонок¹

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

²ФГБУН Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения
Российской академии наук
Россия, 634055, г. Томск, пр. Академический, 2/4

Аннотация

Введение. Низкотемпературная плазма в настоящее время находит применение в медицине, в том числе в терапии опухолей. Активированные плазмой биологические растворы предложены в качестве потенциальных реагентов для лечения рака. Однако биологические эффекты в клетках, вызываемые воздействием холодной плазмы, остаются неизученными. Исследование молекулярных механизмов воздействия холодной плазмы на клетки имеет важное значение для ее клинического применения.

Целью исследования явилась оценка влияния воздействия холодной плазмы на особенности изменения жизнеспособности, активности каталазы, содержания малонового диальдегида в культурах клеток рака молочной железы MCF-7 по сравнению с нормальными клетками фибробластов подкожно-соединительной ткани мыши 3Т3. **Материал и методы.** В качестве объектов исследования использовали клетки эпителия молочной железы млекопитающих MCF-7, в качестве сравнения – клетки эмбриональных фибробластов мыши NIH/3Т3. Обработку клеточных суспензий проводили при помощи низкотемпературной плазмы атмосферного разряда с убегающими электронами. Для количественной оценки жизнеспособности клеточных линий использовали аннексин V и пропидия йодид. Содержание малонового диальдегида определяли по развивающейся окраске его раствора с 2-тиобарбитуровой кислотой при высокой температуре в кислой среде. Активность каталазы оценивали по скорости разложения перекиси водорода за определенное время инкубации смеси. **Результаты.** Облучение плазмой клеточной культуры MCF-7 приводило к увеличению содержания малонового диальдегида – основного продукта перекисного окисления липидов. Увеличение данного параметра является показателем повреждения мембран клеток и окислительного стресса, вызванного облучением. Кроме того, при одном режиме облучения холодная плазма проявляла стимулирующий эффект на культуре клеток 3Т3, а на культуре MCF-7, наоборот, стимулировала гибель клеток. **Заключение.** Установлено, что холодная плазма воздействует на опухолевые и нормальные клетки по-разному. Активность каталазы и МДА являются значимыми маркерами в оценке интенсивности окислительного стресса.

Ключевые слова: холодная плазма, клетки рака молочной железы MCF-7, перекисное окисление липидов, каталаза, малоновый диальдегид.

IN VITRO BIOCHEMICAL FEATURES OF COLD PLASMA APPLICATION IN MCF-7 EXPERIMENTAL BREAST CANCER CELLS

**A.B. Zinnurova¹, K.P. Vorobyev¹, O.V. Bakina^{1,2}, E.I. Senkina², L.V. Spirina¹,
O.L. Nosareva¹, T.V. Zhavoronok¹**

¹Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia

2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia

²Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
2/4, Akademicheskiy prospect, Tomsk, 634055, Russia

Abstract

Introduction. Low-temperature plasma is currently used in medicine, including cancer therapy. Plasma-activated biological solutions have already been proposed as potential reagents for cancer treatment. However, the biological effects in cells induced by exposure to cold plasma still remain unexplored. Investigation of the molecular mechanisms of the effects of cold plasma on cells is of great clinical importance for its clinical application. **The aim of the present study** was to evaluate the effect of cold plasma exposure on apoptosis, catalase activity, and malonic dialdehyde content in MCF-7 breast cancer cell cultures compared to 3T3 normal fibroblast cells. **Material and Methods.** MCF-7 mammary epithelial cells were used as research objects, and NIH/3T3 mouse embryonic fibroblast cells were used as controls. Cell suspensions were treated using low-temperature atmospheric discharge plasma with escaping electrons. Annexin V and propidium iodide were used to quantify cell line apoptosis. The content of malonic dialdehyde was determined by the developing coloration of its solution with 2-thiobarbituric acid at high temperature in acidic medium. The activity of catalase was estimated by the rate of decomposition of hydrogen peroxide for a certain time of incubation of the mixture. **Results.** It was found that irradiation of MCF-7 cell culture with plasma led to an increase in the content of malondialdehyde, the main product of lipid peroxidation. The increase in this parameter is an indicator of cell membrane damage and oxidative stress induced by irradiation. In addition, under the same irradiation regime, cold plasma showed a stimulating effect on the culture of 3T3 cells, while on the MCF-7 culture, on the contrary, it stimulated the activation of apoptosis and cell death. **Conclusion.** In the present study, we found that exposure of tumor and normal cells to cold plasma promotes apoptosis activation. Catalase and MDA activity have been shown to be significant markers capable of assessing the intensity of oxidative stress.

Key words: cold plasma, MCF-7 breast cancer cells, lipid peroxidation, catalase, malonic dialdehyde.

Введение

В настоящее время технология холодной плазмы (ХП) представляет собой перспективный подход воздействия на клетки человека [1] и находит применение для дезинфекции и заживления ран, стерилизации медицинских изделий и в противоопухолевой терапии [2]. В последние годы все больше исследователей обращают внимание на влияние ХП на опухолевые культуры клеток человека. Полагают, что данный подход может быть перспективным для лечения злокачественных новообразований [3, 4]. Ранее сообщалось, что активируемая ХП среда оказывала *in vitro* противоопухолевое воздействие на клетки глиобластомы головного мозга [5], карциномы яичников [6], раковые клетки поджелудочной железы [7] и др. Однако биологические эффекты, вызываемые данным воздействием, остаются неизученными.

Взаимодействия ХП с биологическими жидкостями широко изучались рядом авторов [8, 9]. Поток ионизованного газа, имеющий относительно низкую температуру, способен активировать раз-

личные молекулы и частицы [10]. Поскольку воздух содержит азот, кислород и воду, в нем генерируются короткоживущие радикалы – активные формы кислорода (АФК), модель генерации которых в результате взаимодействия плазменной струи с воздухом и растворами впервые исследована А.М. Hirst et al. [11]. Холодная плазма способна взаимодействовать с питательной средой для культур клеток, содержащей большое количество компонентов, включая неорганические соли, витамины и аминокислоты [12–14]. Полученные данные свидетельствовали о потере функций аминокислот как питательных веществ и об увеличении содержания перекисных радикалов в присутствии лактата. Кроме того, генерация АФК являлась ключевым звеном в развитии окислительного стресса (ОС), приводящего к гибели клетки [15] за счет окислительной модификации макромолекул (ОММ), в частности полипептидов [16]. В недавних исследованиях было показано, что пьезоэлектрическая ХП индуцирует апоптоз и аутофагию в клетках гепатоцеллюлярной карциномы человека путем блокирования гликолиза и

пути АКТ/mTOR/HIF-1 α [17, 18]. Таким образом, понимание молекулярных механизмов воздействия ХП на клетки имеет важное клиническое значение для ее клинического применения.

Целью исследования явилось изучение влияния ХП на особенности апоптоза, активности каталазы, содержания малонового диальдегида (МДА) в культурах клеток рака молочной железы MCF-7 и нормальных клеток – 3Т3 фибробластов подкожно-соединительной ткани мыши.

Материал и методы

Клетки эпителия молочной железы млекопитающих (MCF-7) и клетки эмбриональных фибробластов мыши (NIH/3T3) инкубировали в питательной среде DMEM/F-12 с L-глутамином (Биолот, Россия), с добавлением 10 % сыворотки крупного рогатого скота (HiClone, США) и 1 % пенициллин/стрептомицина (Биолот, Россия) при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂ (МСО-5АС Sanyo, Япония). После образования монослоя со 100 % конfluenceностью на дне культуральной чашки Петри клетки снимали раствором Трипсина-Версена (Биолот, Россия). Количество живых клеток определяли окрашиванием витальным красителем трипановым синим (Биолот, Россия). Клетки высевали в 24-луночные планшеты (Costar, США) с питательной средой по 1,8 $\times$ 10⁵ клеток в каждую лунку и культивировали в течение 30 мин при температуре 37 °C и 5 % CO₂.

Обработку ХП проводили при помощи низкотемпературной плазмы атмосферного разряда с убегающими электронами (Atmospheric Discharge with Runaway Electrons – DRE) на установке «Артемида» [19]. Планшет с клеточной культурой помещали между электродами установки на расстоянии 30 мм от верхнего электрода. Обработку ХП проводили в режиме непрерывной генерации импульсов при амплитуде импульсов выходного напряжения – 56 кВ, длительности фронта импульса – 10 нс, длительности импульса на полувысоте – 40 нс. Применяемая в установке конструкция электрода позволяет эффективно и равномерно обрабатывать убегающими электронами полимерные волокнистые материалы по всей внешней и внутренней поверхности [20].

Для количественной оценки жизнеспособности клеточных линий использовали аннексин V (FITC) и пропидий йодид (PI). Аннексин-V является типичным маркером гибели клеток, который широко используется при оценке жизнеспособности клеток при химическом или физическом воздействии [21]. Комбинированная окраска аннексином-V и красителем PI позволяет идентифицировать живые клетки как отрицательные по аннексину V и отрицательные по пропидий йодиду (Аннексин V-/PI-), клетки не будут окрашены. На ранней стадии апоптоза клетки связывают аннексин V, но будут отрицательны по пропидий йодиду (Аннексин

V+/PI-). Апоптотические клетки с нарушенной в результате вторичного некроза целостностью мембраны будут окрашены PI и иметь ореол зеленого/дальне-красного окрашивания на плазматической мембране (Аннексин V+/PI+). Некротические клетки в результате проникновения йодистого пропидия внутрь будут окрашены красным (PI+).

Клеточную суспензию переносили из лунок планшета в пробирки Эппендорфа объемом 1,5 мл, центрифугировали, дважды промывали натрий-фосфатным буфером (PBS) и ресуспендировали в буфере, связывающем аннексин V с метили аннексином V-FITC и пропидий йодидом в соответствии с инструкциями производителя (BD Pharmingen, США). Для каждого измерения было проанализировано не менее 10 000 клеток методом проточной цитометрии (Beckman Coulter CytoFLEX, США).

МДА определяли по развивающейся окраске при взаимодействии МДА и 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК) при высокой температуре в кислой среде. Клетки дважды промывали PBS, лизировали ультразвуком и центрифугировали. К 1 мл надосадочной жидкости добавляли 1 мл 10 % трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и 0,5 мл 0,75 % тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Далее пробы помещали в кипящую водяную баню на 15 мин. Пробы охлаждали, центрифугировали при 3 000 об/мин в течение 10 мин. Оптическую плотность надосадочной жидкости измеряли при длине волны 532 нм.

Активность каталазы оценивали по скорости разложения перекиси водорода за определенное время инкубации смеси при температуре 37 °C. Метод является быстрым, точным и соответствует принципам зеленой химии. Химические вещества, используемые в этом методе, более безопасны для окружающей среды, чем те, которые использовались ранее, например в ферритиоцианатном методе [22]. Количественное определение перекиси водорода проводили с помощью цветной реакции с молибденово-кислым аммонием при длине волны 410 нм. К 0,1 мл промытых и лизированных клеток добавляли 2,0 мл 0,03 % раствора перекиси водорода и инкубировали 10 мин при 37 °C. Реакцию останавливали добавлением 1,0 мл 4 % раствора молибдата аммония. Пробы центрифугировали 10 мин при 4 000 об/мин, интенсивность развивающейся окраски измеряли на спектрофотометре при длине волны 410 нм.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета статистических программ STATISTICA 10.0. Проверка предположения о нормальности распределения признаков выполнялась с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Значимость различий оценивали по критерию Манна–Уитни. Данные представлены как Me (Q1;Q3). Корреляционный анализ был проведен с помощью непараметрического критерия Спирмена.

Результаты и обсуждение

При исследовании апоптоза клеточных линий методом проточной цитометрии (рис. 1) отмечено, что в культуре клеток MCF-7 количество клеток в стадии некроза составляло 21 %, в стадии раннего апоптоза – 3 %, в стадии позднего апоптоза – 13 %.

После 1-й мин облучения ХП были отмечены следующие изменения (таблица): количество живых клеток снижалось до 43,81 %, количество клеток в стадии некроза снижалось незначительно (14,73 %). Вместе с этим, значительно увеличивалось количество клеток в стадии раннего (34,74 %) и позднего (6,72 %) апоптоза. Увеличение количества апоптотических клеток MCF-7 одновременно со снижением их жизнеспособности свидетельствовало о повреждающем действии ХП уже в течение 1 мин экспозиции.

Дальнейшее увеличение длительности воздействия ХП до 2 мин привело к снижению количества

живых клеток в клеточной культуре MCF-7 до 34,05 % и увеличению клеток в стадии раннего апоптоза до 38,47 % и в стадии позднего апоптоза до 16,88 %. Таким образом, количество жизнеспособных клеток при воздействии ХП снизилось в 1,8 раза по сравнению с контролем, также увеличился процент раннего и позднего апоптоза при снижении доли клеток, находящихся в некрозе.

Для оценки токсического воздействия ХП на нормальные клетки исследовали изменение жизнеспособности клеточной линии 3Т3, обладающей высокой чувствительностью и рекомендованной ГОСТ Р ИСО 10993.5 [23]. В контроле клеток 3Т3 количество клеток в стадии некроза составляло 18,53 %, в стадии раннего апоптоза – 28,03 %, в стадии позднего апоптоза – 3,09 %. После первой минуты обработки ХП не наблюдалось изменения количества жизнеспособных клеток по сравнению с контролем. После 2 мин облучения ХП количество

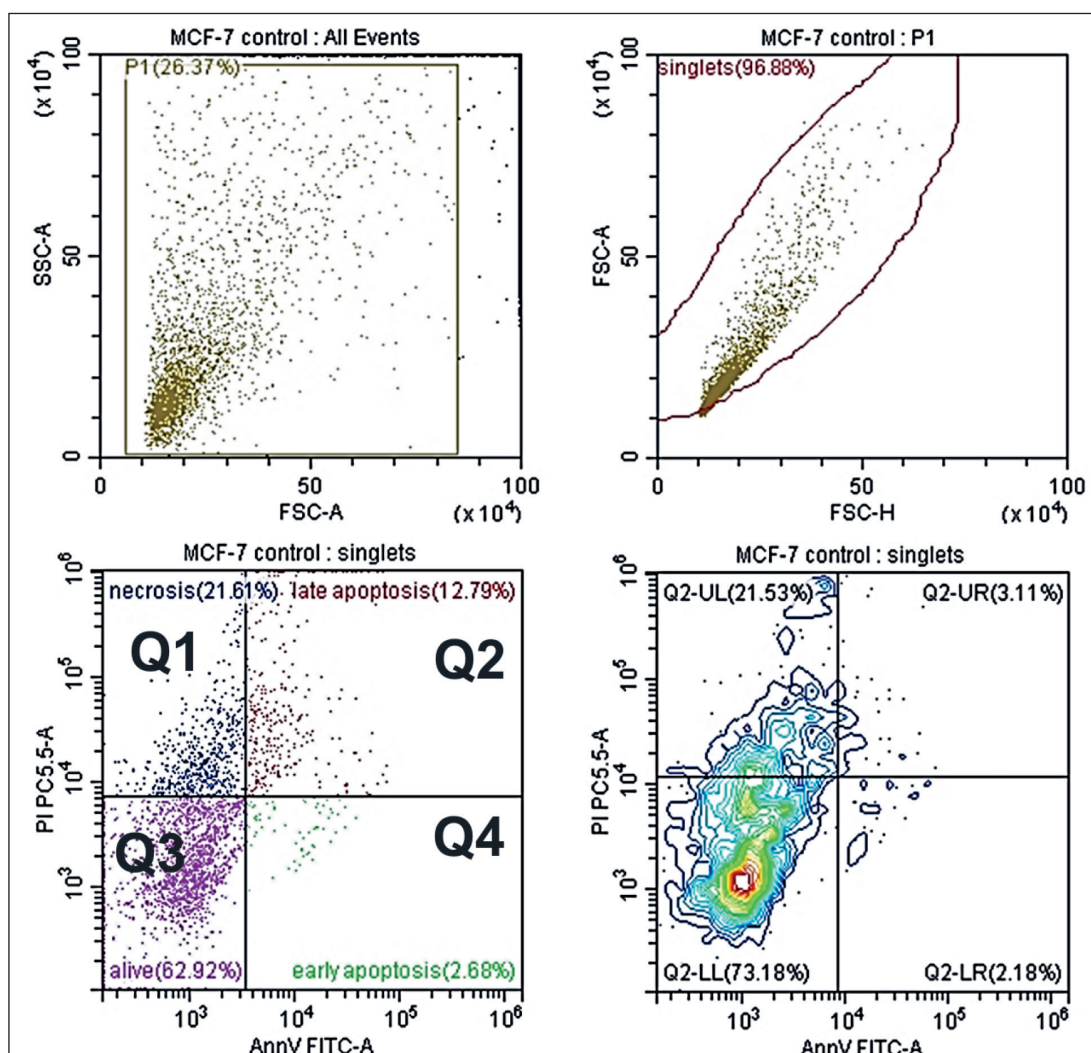


Рис. 1. Анализ жизнеспособности клеточной линии MCF-7 двойным окрашиванием аннексином V (FITC) и PI до обработки ХП.

Примечания: Q1 – некротические клетки; Q2 – поздние апоптотические клетки; Q4 – ранние апоптотические клетки и Q3 – жизнеспособные клетки; рисунок выполнен авторами

Fig. 1. Features of viability in MCF-7 cell culture by annexin V (FITC) and propidium iodide-doubled staining before cold plasma treatment. Notes: Q1– shows necrotic cells; Q2 – shows late apoptotic cells; Q4– shows early apoptotic cells, and Q3 – shows the viable cells; created by the authors

Таблица/Table

Особенности апоптоза, активности каталазы, содержания МДА в культурах клеток рака молочной железы MCF-7, 3T3 фибробластов мыши под влиянием холодной плазмы

The influence of cold plasma on apoptosis, catalase activity and MDA content in MCF-7 and 3T3 cells

Показатели/ Parameters	MCF-7			3T3		
	Контроль/ Control	1 мин/1 min	2 мин/2 min	Контроль/ Control	1 мин/1 min	2 мин/2 min
МДА, мкмоль/л / MDA, $\mu\text{M/L}$ ($\times 10^{-5}$)	0,0128 (0,0064; 0,018)	0,019 (0,019; 0,00212)	0,021 (0,00897; 0,030)*	0,018 (0,00577; 0,019)	0,021 (0,020; 0,0288)	0,022 (0,022; 0,0314)
Каталаза, мкмоль/мин $\times$ л/ Catalase, $\mu\text{mol/min}\times\text{L}$ ($\times 10^{-3}$)	0,428 (0,261; 0,610)	0,451 (0,216; 0,622)	0,380 (0,229; 0,532)	0,495 (0,272; 0,648)	0,423 (0,356; 0,666)	0,288 (0,144; 0,514)* **
Апоптоз/Apoptosis	26,09 % (15,47; 34,95)	29,28 % (23,29; 41,46)	25,48 % (19,70; 55,35)	35,38 % (31,12; 44,13)	35,73 % (24,42; 44,70)	32,94 % (24,81; 37,80)
Некроз/Necrosis	26,54 % (13,84; 28,55)	23,44 % (14,73; 30,11)	23,55 % (10,61; 19,70)	18,75 % (13,40; 21,09)	19,09 % (15,13; 22,89)	19,05 % (15,75; 21,86)

Примечания: n=5; * – статистическая значимость различий показателей между контролем и экспериментальной группой при времени экспозиции ХП 2 мин; ** – статистическая значимость результатов при облучении ХП между группами с 1 мин и 2 мин; таблица составлена авторами.

Notes: n=5; * – statistical significance of differences between control and experimental groups at CP exposure time of 2 min; ** – statistical significance of results at CP exposure between groups with 1 min and 2 min; created by the authors.

живых клеток увеличивалось примерно на 3 %, количество клеток в стадии раннего апоптоза снижалось. Это может свидетельствовать о тенденции к небольшому стимулирующему эффекту ХП при облучении клеток. Таким образом, подтверждена тенденция к стимулирующему эффекту ХП на жизнеспособность клеточной линии 3T3, которая заключалась в ее увеличении практически на 3 % и в небольшом снижении доли апоптических клеток по сравнению с контролем (таблица).

Универсальными показателями состояния перекисного окисления липидов являются содержание МДА, активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание окисленных форм белков, которые могут регулировать множество внутриклеточных процессов [24]. Показано, что активность антиоксидантного фермента – каталазы в культуре клеток 3T3 снижалась в 1,7 раза после 2 мин облучения ХП, при этом значительное снижение ($\approx$ на 50 %) приходилось на 2-ю мин обработки (таблица). В то же время активность каталазы в клетках MCF-7 снижалась на 10 % только после 2 мин обработки ХП. Таким образом, увеличение времени экспозиции при облучении ХП приводило к значительному снижению уровня активности каталазы в клетках 3T3, что может быть связано с разрушением структуры фермента под действием высокоэнергетических частиц в плазме. Такое подавление активности каталазы может привести к увеличению концентрации перекиси водорода в клетках и, как следствие, к увеличению окислительного стресса и апоптоза [25].

Облучение клеточной культуры MCF-7 приводило к увеличению содержания МДА – основного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ). Увеличение данного параметра является показателем повреждения мембран клеток, активации окислительного стресса при усилении процесса ПОЛ, вызванного облучением ХП [25–27]. Таким образом, исследование влияния ХП на клеточные культуры MCF-7 и 3T3 показало, что при одном режиме облучения ХП проявляла стимулирующий эффект на культуре клеток 3T3, а на культуре MCF-7, наоборот, стимулировала активацию апоптоза и гибель клеток. Это можно объяснить тем, что клетки опухоли наиболее активны в метаболическом плане и тем самым более восприимчивы к различным физическим воздействиям, в том числе к облучению.

Закключение

Воздействие холодной плазмы на опухолевые и нормальные клетки способствует активации апоптоза. Показано, что активность каталазы и МДА являются значимыми маркерами в оценке интенсивности окислительного стресса. Выявленные изменения, несомненно, требуют подтверждения в дальнейших исследованиях, которые могут пролить свет на механизмы ХП и помочь разработать новые методы защиты клеток от окислительного стресса за счет увеличения активности антиоксидантных систем и разработать новые методы лечения онкологических заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Bernhardt T., Semmler M.L., Schäfer M., Bekeschus S., Emmert S., Boeckmann L. Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology. *Oxid Med Cell Longev*. 2019. doi: 10.1155/2019/3873928.
- Gao L., Shi X., Wu X. Applications and challenges of low temperature plasma in pharmaceutical field. *J Pharm Anal*. 2021; 11(1): 28–36. doi: 10.1016/j.jpha.2020.05.001.
- Babington P., Rajjoub K., Canady J., Siu A., Keidar M., Sherman J.H. Use of cold atmospheric plasma in the treatment of cancer. *Biointerphases*. 2015; 10(2). doi: 10.1116/1.4915264.
- Yan D., Cui H., Zhu W., Nourmohammadi N., Milberg J., Zhang L.G., Sherman J.H., Keidar M. The Specific Vulnerabilities of Cancer Cells to the Cold Atmospheric Plasma-Stimulated Solutions. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 4479. doi: 10.1038/s41598-017-04770-x.
- Tanaka H., Mizuno M., Ishikawa K., Nakamura K., Kajiyama H., Kano H., Kikkawa F., Hori M. Plasma-activated medium selectively kills glioblastoma brain tumor cells by down-regulating a survival signaling molecule, AKT kinase. *Plasma Med*. 2011; 1(3–4): 265–77. doi: 10.1615/PlasmaMed.2012006275.
- Utsumi F., Kajiyama H., Nakamura K., Tanaka H., Mizuno M., Ishikawa K., Kondo H., Kano H., Hori M., Kikkawa F. Effect of indirect nonequilibrium atmospheric pressure plasma on anti-proliferative activity against chronic chemo-resistant ovarian cancer cells in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2013; 8(12). doi: 10.1371/journal.pone.0081576.
- Hattori N., Yamada S., Torii K., Takeda S., Nakamura K., Tanaka H., Kajiyama H., Kanda M., Fujii T., Nakayama G., Sugimoto H., Koike M., Nomoto S., Fujiwara M., Mizuno M., Hori M., Kadera Y. Effectiveness of plasma treatment on pancreatic cancer cells. *Int J Oncol*. 2015; 47(5): 1655–62. doi: 10.3892/ijo.2015.3149.
- Jablonowski H., Schmidt-Bleker A., Weltmann K.D., von Woedtke T., Wende K. Non-touching plasma-liquid interaction - where is aqueous nitric oxide generated? *Phys Chem Chem Phys*. 2018; 20(39): 25387–98. doi: 10.1039/c8cp02412j.
- Takeda K., Ishikawa K., Tanaka H., Sekine M., Hori M. Spatial distributions of O, N, NO, OH and vacuum ultraviolet light along gas flow direction in an AC-excited atmospheric pressure Ar plasma jet generated in open air. *J Physics D: Appl Physics*. 2017; 50(19). doi: 10.1088/1361-6463/aa6555.
- Lim K., Hieltjes M., van Eysen A., Smits P. Cold plasma treatment. *J Wound Care*. 2021; 30(9): 680–3. doi: 10.12968/jowc.2021.30.9.680.
- Hirst A.M., Frame F.M., Arya M., Maitland N.J., O'Connell D. Low temperature plasmas as emerging cancer therapeutics: the state of play and thoughts for the future. *Tumour Biol*. 2016; 37(6): 7021–31. doi: 10.1007/s13277-016-4911-7.
- Ishikawa K., Hosoi Y., Tanaka H., Jiang L., Toyokuni S., Nakamura K., Kajiyama H., Kikkawa F., Mizuno M., Hori M. Non-thermal plasma-activated lactate solution kills U251SP glioblastoma cells in an innate reductive manner with altered metabolism. *Arch Biochem Biophys*. 2020; 688. doi: 10.1016/j.abb.2020.108414.
- Takahashi Yo., Taki Yu., Takeda K., Hashizume H., Tanaka H., Ishikawa K., Hori M. Reduced HeLa cell viability in methionine-containing cell culture medium irradiated with microwave-excited atmospheric-pressure plasma. *Plasma Processes and Polymers*. 2018; 15(3). doi: 10.1002/ppap.201700200.
- Liu Ya., Ishikawa K., Miron C., Hashizume H. Hydrogen peroxide in lactate solutions irradiated by non-equilibrium atmospheric pressure plasma. *Plasma Sources Sci Technol*. 2021; 30(4). doi: 10.1088/1361-6595/abbbd4.
- Al Mamun A., Wu Y., Monalisa I., Jia C., Zhou K., Munir F., Xiao J. Role of pyroptosis in spinal cord injury and its therapeutic implications. *J Adv Res*. 2020; 28: 97–109. doi: 10.1016/j.jare.2020.08.004.
- Dubey S.K., Dabholkar N., Pal U.N., Singhvi G., Sharma N.K., Puri A., Kesharwani P. Emerging innovations in cold plasma therapy against cancer: A paradigm shift. *Drug Discov Today*. 2022; 27(9): 2425–39. doi: 10.1016/j.drudis.2022.05.014.
- Wang Y., Mang X., Li X., Cai Z., Tan F. Cold atmospheric plasma induces apoptosis in human colon and lung cancer cells through modulating mitochondrial pathway. *Front Cell Dev Biol*. 2022; 10. doi: 10.3389/fcell.2022.915785.
- Wang Y., Mang X., Li D., Chen Y., Cai Z., Tan F. Piezoelectric cold atmospheric plasma induces apoptosis and autophagy in human hepatocellular carcinoma cells through blocking glycolysis and AKT/mTOR/HIF-1 α pathway. *Free Radic Biol Med*. 2023; 208: 134–52. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.07.036.
- Maltsev A.N. Dense gas discharge with runaway electrons as a new plasma source for surface modification and treatment. *IEEE transactions on plasma science*. 2006; 34(4): 1166–74.
- Ложкомоев А.С., Глазкова Е.А., Хоробрая Е.Г., Лернер М.И., Мальцев А.Н., Подковыров В.Г. Модификация поверхности полимерных волокон DRE-плазмой для адгезии частиц оксидгидроксида алюминия. *Известия высших учебных заведений*. 2013; 56(4): 22–6. [Lozhkomoev A.S., Glazkova E.A., Khorobraya E.G., Lerner M.I., Maltsev A.N., Podkovyrov V.G. Modification of the surface of polymer fibers with DRE plasma for adhesion of aluminum oxyhydroxide particles. *News of Higher Education Institutions*. 2013; 56(4): 22–6. (in Russian)].
- Kumar V., Sharma N., Maitra S.S. In vitro and in vivo toxicity assessment of nanoparticles. *Int Nano Lett*. 2017; 7(4): 243–56. doi: 10.1007/s40089-017-0221-3.
- Hadwan M.H., Abed H.N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity. *Data Brief*. 2015; 6: 194–99. doi: 10.1016/j.dib.2015.12.012.
- ГОСТ Р ИСО 10993.5. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 5. Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro* [ISO 10993-5. Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. (in Russian)].
- Shan K., Feng N., Zhu D., Qu H., Fu G., Li J., Cui J., Chen H., Wang R., Qi Y., Chen Y.Q. Free docosahexaenoic acid promotes ferroptotic cell death via lipoxygenase dependent and independent pathways in cancer cells. *Eur J Nutr*. 2022; 61(8): 4059–75. doi: 10.1007/s00394-022-02940-w.
- Wang Y., Mang X., Li D., Wang Z., Chen Y., Cai Z., Tan F. Cold atmospheric plasma sensitizes head and neck cancer to chemotherapy and immune checkpoint blockade therapy. *Redox Biol*. 2024; 69. doi: 10.1016/j.redox.2023.102991.
- Dai X., Wu J., Lu L., Chen Y. Current Status and Future Trends of Cold Atmospheric Plasma as an Oncotherapy. *Biomol Ther (Seoul)*. 2023; 31(5): 496–514. doi: 10.4062/biomolther.2023.027.
- Gay-Mimbrera J., Garcia M.C., Isla-Tejera B., Rodero-Serrano A., Garcia-Nieto A.V., Ruano J. Clinical and Biological Principles of Cold Atmospheric Plasma Application in Skin Cancer. *Adv Ther*. 2016; 33(6): 894–909. doi: 10.1007/s12325-016-0338-1. Erratum in: *Adv Ther*. 2016.

Поступила/Received 09.04.2024

Одобрена после рецензирования/Revised 01.10.2024

Принята к публикации/Accepted 09.12.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Зиннурова Алина Борисовна, лаборант-исследователь кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): KGK-6645-2024.

Воробьев Кирилл Павлович, аспирант, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). ORCID: 0009-0004-9237-2086.

Баккина Ольга Владимировна, доктор технических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения Российской академии наук; доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9002-1344. Researcher ID (WOS): A-3184-2014. Author ID (Scopus): 57200860509. ORCID: 0000-0002-8650-6939.

Сенькина Елена Ивановна, младший научный сотрудник, ФГБН «Институт физики прочности и материаловедения» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3172-7530. Researcher ID (WOS): AGN-2441-2022. Author ID (Scopus): 57657672100. ORCID: 0000-0002-0251-8829.

Спирнина Людмила Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский универ-

ситет» Минздрава России (г. Томск, Россия). Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

Носарева Ольга Леонидовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5688-7566. Researcher ID (WOS): E-7153-2016. Author ID (Scopus): 22955735900. ORCID: 0000-0002-7441-5554.

Жаворонок Татьяна Васильевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6682-9217. Researcher ID (WOS): P-1272-2016. Author ID (Scopus): 57156704300.

ВКЛАД АВТОРОВ

Зиннурова Алина Борисовна: сбор и обработка данных, написание черновика статьи.

Воробьев Кирилл Павлович: сбор и обработка данных, статистическая обработка данных.

Бакина Ольга Владимировна: обработка результатов исследования, критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение окончательного варианта статьи.

Сенькина Елена Ивановна: сбор и обработка данных, статистическая обработка данных.

Спирина Людмила Викторовна: написание статьи, редактирование статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Носарева Ольга Леонидовна: работа с графическим материалом, критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Жаворонок Татьяна Васильевна: обзор литературы, критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2), протокол № 4 от 16.11.18.

Благодарности

Разработка методики плазменной обработки и обработка клеточных культур выполнены в рамках государственного задания ИФПМ СО РАН, тема FWRW-2022-0002.

ABOUT THE AUTHORS

Alina B. Zinnurova, Research Laboratory Assistant, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): KGK-6645-2024.

Kirill P. Vorobyev, Postgraduate, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0009-0004-9237-2086.

Olga V. Bakina, DSc, Leading Researcher, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-3184-2014. Author ID (Scopus): 57200860509. ORCID: 0000-0002-8650-6939.

Elena I. Senkina, Junior Researcher, Institute of Strength Physics and Materials Science, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): AGN-2441-2022. Author ID (Scopus): 57657672100. ORCID: 0000-0002-0251-8829.

Ludmila V. Spirina, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7760-2012. Author ID (Scopus): 36960462500. ORCID: 0000-0002-5269-736X.

Olga L. Nosareva, MD, DSc, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-7153-2016. Author ID (Scopus): 22955735900. ORCID: 0000-0002-7441-5554.

Tatiana V. Zhavoronok, DSc, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): P-1272-2016. Author ID (Scopus): 57156704300.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Alina B. Zinnurova: data collection and processing, drafting of the manuscript.

Kirill P. Vorobyev: data collection and processing, statistical data processing.

Olga V. Bakina: processing of the research results, critical revision of the manuscript with the introduction of valuable intellectual contributions, and approval of the final version of the article.

Elena I. Senkina: data collection and processing, statistical data processing.

Ludmila V. Spirina: writing of the manuscript, editing of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Olga L. Nosareva: working with figures, critically revising the manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

Tatiana V. Zhavoronok: literature review, critical revision of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia), protocol No. 4 dated November 16, 2018.

Acknowledgements

The development of plasma treatment methodology and cell culture treatment were performed within the framework of the state assignment of the Institute of Physics and Mathematics of SB RAS, topic FWRW-2022-0002.