

СЕКЦИЯ 6. БИМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Применение низкотемпературной плазмы пониженного давления в клинической медицине и фармацевтике

Т.М. Васильева, Е.О. Кудасова,* Е.В. Кочурова, **Р.А. Акасов, М.Н. Васильев, Хтет Ко КоЗау, Хтет Вэй Ян Чжо**

Долгопрудный, Московская обл., Московский физико-технический институт, Институтский пер., д. 9. E-mail: tmvasilieva@gmail.com

** Москва, ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. E-mail: kudasovakat@yahoo.com*

***Москва, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10. E-mail: roman.akasov@gmail.com*

Описаны генераторы электронно-пучковой плазмы и гибридной плазмы, предназначенные для применения в клинической медицине и фармацевтике. В реакторах осуществлена управляемая деструкция хитозана и модификация поверхности стоматологической пластмассы на основе полиметилметакрилата в среде кислорода при давлениях 0,5-5,0 Торр. Низкомолекулярные продукты деструкции хитозана обладали антибактериальной и фунгицидной активностью. Модификация ортопедических конструкций повышала их гидрофильность и улучшала биосовместимость с клетками и тканями организма человека.

Applications of low-pressure plasmas in practical medicine and pharmaceuticals. T.M.Vasilieva, E.O.Kudasova, E.V.Kochurova, R.A.Akasov, M.N.Vasiliev, Htet Ko KoZaw, Htet Vey Yan Chzo. Electron-beam plasma and hybrid plasma generators for use in clinical medicine and pharmaceuticals are described. In the reactors, controlled destruction of chitosan and modification of the surface of dental plastic based on poly(methylmethacrylate) in an oxygen media at pressures of 0.5–5.0 Torr was carried out. Low molecular weight products of chitosan had antibacterial and fungicidal activity. Modification of orthopedic structures increased their hydrophilicity and improved biocompatibility with cells and tissues of the human body.

К концу 20-го века различные типы низкотемпературной плазмы (НТП) стали находить свое практическое применение не только для многочисленных производственных технологий [1], но и в совершенно новых инновационных областях, таких как плазменная медицина. По прогнозам, VDI Technologiezentrum GmbH, Evaluierung Plasmatechnik (г. Дюссельдорф, Германия) именно эта сфера будет наиболее перспективными для разработки и внедрения плазменно-стимулированных процессов. Медицинские приложения НТП среди прочего включают стерилизацию оборудования, ран и тканей организма, лечение инфекционных заболеваний кожи, слизистых оболочек и глаз, дезинфекцию корневых каналов и отбеливание зубов, стимулирование регенерации клеток, плазменную уничтожение раковых клеток, а также модификацию поверхностей полимерных материалов с целью повышения их биосовместимости с тканями организма человека [2].

Разработаны разнообразные плазменные установки, в которых реализуются процессы плазмохимического воздействия на полимерные материалы и биологические системы. В последнее время большую популярность приобрели газоразрядные реакторы, генерирующие НТП атмосферного давлений. Так, установки kINPen® MED и kINPen® DENT (Neoplastools GmbH, Германия) и MicroPlaSter (Adtecplasma, Великобритания), которые проходят испытания в медицинских клиниках и исследовательских центрах Европы и США [3]. Наряду с достоинствами таких генераторов НТП, главными из которых является удобство использования, у них имеются и существенные недостатки, ограничивающие возможности применения на практике. В первую очередь это контракция газового разряда при атмосферном

давлении, что сильно затрудняет формирование больших реакционных объемов и обработку больших поверхностей. Реакционные объемы, как правило, неоднородны: в них могут возникать зоны с высоким энерговыделением, в которых происходит значительный разогрев плазмообразующей среды и помещенных в нее объектов.

Понижение давления в реакционном объеме открывающаяся при этом возможность использования гибридной плазмы позволяет преодолеть перечисленные недостатки, что делает актуальной разработку новых плазмохимических реакторов, реализующих способы комбинированного пучково-плазменного воздействия на вещество. В настоящей работе рассматриваются некоторые биомедицинские приложения электронно-пучковой гибридной плазмы.

Генерация электронно-пучковой и гибридной плазмы

Электронно-пучковая плазма (ЭПП) генерируется при инжекции электронного пучка (ЭП) в плотную газообразную среду. Геометрия, состав, температуры частиц и др. характеристики ЭПП определяются энергией электронов E_b , мощностью пучка N_b ($N_b < 1$ кВт), а также давлением P_m ($0,1 < P_m < 10$ кПа), температурой T_m плазмообразующей среды, а также ее химическим и фазовым составом. Изменяя мощность ЭП при постоянном давлении P_m (или, наоборот, изменяя давление газа при постоянной N_b), возможно управлять режимами работы генератора ЭПП и за счет этого контролируемым образом осуществлять различные неравновесные плазмохимические реакции. При этом температуру образца во время обработки удастся поддерживать на заданном уровне, а снижение температуры процесса вплоть до комнатной практически не сказывается на высокой химической активности плазмы.

Гибридная плазма (ГП) генерируется, когда на плазмообразующую среду совместно или попеременно воздействуют два (или более) ионизатора. В настоящем исследовании для формирования достаточно больших плазменных объемов в качестве основного ионизатора был использован электронный пучок, а дополнительным источником ионизации служил ВЧ-разряд с частотой 13,56 МГц. ГП обладает чрезвычайно важными дополнительными преимуществами – возможностью практически безинерционного управления свойствами и геометрией реакционного объема с помощью ЭП и более высокой устойчивостью реакционного объема к контракции при повышении давления. К преобладающим в газоразрядной плазме химически активным возбужденным частицам добавляются не менее активные ионы, в значительных концентрациях нарабатываемые в газе электронным пучком. В ГП возможно также образование новых частиц, которые возникают только при комбинированном воздействии ВЧ-разряда и ЭП.

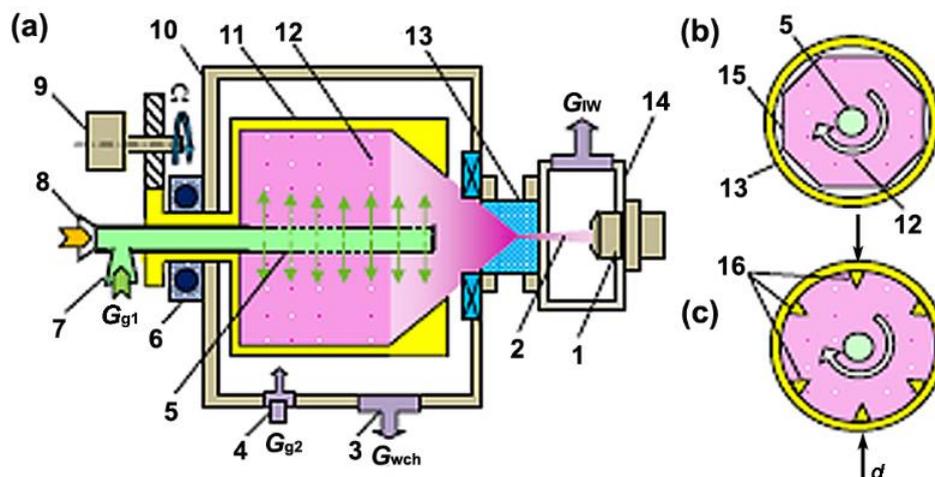
Экспериментальная установка

Рис. 1 иллюстрирует общую схему плазмохимического реактора, предназначенного для генерации ЭПП и ГП. Облако плазмы 12 образуется в реакционной камере 11, размещенной внутри рабочей камеры 10. Рабочая камера имеет разъем 3 для вакуумирования и разъем 4 для подачи основного плазмообразующего газа с расходом G_{g2} . ВЧ-мощность от генератора GenesisGHW-12 (MKS Instruments, Великобритания, частота 13,6 МГц) подается на активный электрод 5 через герметичный ввод 8. Электрод 5 изготовлен из пористой металлической трубки, через которую может подаваться дополнительный газ с расходом G_{g1} , если это необходимо. Один конец реакционной камеры открыт, и через него вводится ЭП 2. Для генерации ЭПП ВЧ-генератор, не используется.

Электронный пучок генерируется электронной пушкой 1 внутри высоковакуумной камеры 14 ($\sim 10^{-5}$ Торр), а затем транспортируется в рабочую камеру через специальное выводное устройство 13. Выводное устройство объединяется с электромагнитной системой отклонения, которая может отклонять ось ЭП в двух перпендикулярных направлениях и формировать растр.

В разработанном реакторе могут быть сформированы как неподвижные облака ЭПП и ГП, так и плазменные потоки, для создания которых применяются сопловые устройства различных типов. С помощью разнообразных форсунок в облаке или потоке плазмы можно

диспергировать жидкости или порошки, создавая таким способом реакционный объем в виде аэрозоля. Различные конструкции пучково-плазменных реакторов подробно описаны в [4].



*Рис. 1. Схема гибридного плазмохимического реактора (коаксиальная конфигурация)
1 – электронная пушка, 2 – электронный пучок, 3 – подключение к вакуумному насосу, 4 – питатель основного газа (расход G_{g2}), 5 – активный ВЧ-электрод, 6 – ввод электропривод для вращающегося держателя образцов, 7 – питатель дополнительного газа (расход G_{g1}), 8 – ввод ВЧ-мощности, 9 – электропривод для вращающегося держателя образцов, 10 – рабочая камера, 11 – реакционный контейнер, 12 – облако плазмы, 13 – выводное окно с системой сканирования ЭП, 14 – высоковакуумная камера, 15 – держатель образцов, 16 – диэлектрические стержни; $d = 50-150$ мм*

Для обработки компактных образцов реакционная камера снабжена специальными держателями 12. В рассматриваемых в настоящей работе экспериментах использовались синтетические органические (полиметилметакрилат (ПММА), полиэтилентерефталат, силиконовые резины) и природные (хитин, хитозан, целлюлоза, альгинаты) полимеры. Перечисленные материалы достаточно широко применяются в медицинской практике, и улучшение их медико-биологических характеристик является актуальной задачей.

Для обработки порошковых материалов реакционная камера приводится во вращение с помощью 9. При этом внутренняя оснастка реакционной камеры заменяется на специальные ребра для перемешивания порошка в процессе обработки, что обеспечивает равномерность обработки материала по всему объему камеры. Как будет показано ниже, таким способом удастся получать биоактивные соединения с ценными с точки зрения их применения в фармацевтике свойствами.

Реактор тестировали на тонких пленках (толщина $8 \pm 0,5$ мкм) и порошках (диаметр 50 мкм) хитозана, а также пластинках, изготовленных из стоматологической пластмассы на основе ПММА («Villacryl H Plus», «Жермак», Италия). В таблице 1 приведены типичные условия проводившихся экспериментов.

Таблица 1. Параметры генерации ЭПП и ГП в экспериментах по модификации полимеров.

Параметр	Величина
U , кВ	20-30
I_b , мА	1-10
Состав плазмообразующей среды	O_2
Статическое давление в газодинамическом канале P_m , Торр	0,5-5,0
Мощность ВЧ-разряда N_{RF} , Вт	15

Примеры использования ЭПП и ГП для модификации полимеров и получения биоактивных соединений и поверхностей

1) ЭПП-стимулированная деструкция порошков хитозана

Порошки хитозана подвергали обработке в ЭПП в течение 5 мин. Плазменно-стимулированный гидролиз полисахаридов приводил к их быстрой деполимеризации с образованием смеси водорастворимых олигохитозанов с выходом 85%. Средневесовые молекулярные массы продуктов плазмохимической модификации хитозанов, полученные в оптимальных условиях, варьировались в пределах 570-2000 кДа, что соответствует набору олигомеров от димеров до гептамеров, с преобладанием тримеров.

При этом следует особо отметить два фундаментальных результата, имеющих чрезвычайно важное практическое значение:

- пороговый характер зависимости, связывающей степень деструкции полимера с длительностью пучково-плазменного воздействия, что позволяет оптимизировать процесс обработки и исключить непроизводительные энергозатраты;
- вероятность появления побочных, не растворимых в воде соединений в составе продуктов пучково-плазменной модификации хитозанов – эффекта, обусловленного обратной полимеризацией образующихся низкомолекулярных продуктов при неоптимальном выборе условий обработки.

Исследование свойств хитоолигосахаридов, полученных путем ЭПП-стимулированного гидролиза хитозанов, показали, что эти продукты обладают антибактериальным (как в случае покоящихся, так и в случае размножающихся грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов) и фунгицидным (что было показано на ряде дрожжеподобных и мицелиальных грибов) эффектом.

2) Модификация (био)полимеров в ГП

Возможности использования ГП и гибридных плазмохимических реакторов в области биологии и медицины были продемонстрированы в экспериментах с тонкими плёнками, полученными из природного полимера хитозана, и пластинках, изготовленных из ПММА.

Краевой угол смачивания по воде модифицированных хитозановых пленок, существенно понижался по сравнению с исходными образцами (с $96,95 \pm 1,89^\circ$ у исходных пленок до практически нулевого значения при обработке в кислородсодержащих плазмообразующих средах), что свидетельствует о радикальном улучшении гидрофильных свойств. Данный эффект был стабилен в течение 2 месяцев после обработки. С использованием ИК-спектроскопии было показано формирование на поверхности полисахаридных пленок полярных химически активных кислородсодержащих групп ($-\text{OH}$, $-\text{COH}$ и $-\text{C=O}$, $-\text{COOH}$).

Значения контактного угла смачивания по воде (θ_w) и дийодометану (θ_{DM}), а также значения полной поверхностной энергии γ_{tot} и ее полярной γ_{pol} (вода) и дисперсионной γ_{disp} (дийодметан) компонент для ПММА, обработанного в ГП различных газов плазме приведены в таблице 2. Значительное уменьшение θ_w отмечалось уже после 2 мин обработки. Свободная поверхностная энергия γ_{tot} увеличивалась с длительностью плазмохимического воздействия.

Биосовместимость модифицированного в кислородной ГП ПММА оценивали в экспериментах на культурах фибробластов в МТТ-тесте, который отражает способность клеток к росту и размножению. Результаты сравнивали с биоактивностью образцов ПММА, обработанного в ЭПП и ВЧ-разряде. Было установлено, что наиболее интенсивный рост фибробластов происходит на поверхности ПММА, модифицированного в ГП кислорода. Таким образом, модификация полимера в ГП придает полимерной поверхности наибольшую биосовместимость, что вероятно связано, с большим количеством на ее поверхности полярных группировок и как следствие большей гидрофильностью.

Таблица 2. Изменения гидрофильно-гидрофобных свойств поверхности образцов ПММА до и после плазменной модификации в ГП кислорода и гексафторида серы в зависимости от времени обработки (τ). Условия модификации: $N_{RF} = 10$ Вт, $I_b = 2$ мА, $P_m = 0,5$ Торр.

Время обработки	θ_w (градус)	θ_{DM} (градус)	γ_{pol} (мДж/м ²)	γ_{disp} (мДж/м ²)	γ_{tot} (мДж/м ²)
Контроль ПММА необработанный	74,7 ± 0,1	34,7 ± 0,2	3,05	41,36	44,41
ПММА ГП-O ₂ $\tau = 2$ мин	45,6 ± 0,6	39,6 ± 0,2	17,4	41,88	59,28
ПММА ГП-O ₂ $\tau = 5$ мин	38,6 ± 0,1	39 ± 0,8	21,53	42,61	64,14
ПММА ГП-O ₂ $\tau = 10$ мин	30,7 ± 0,5	36,8 ± 0,1	27,14	41,52	68,66

Данные представлены в виде среднее значение ± стандартное отклонение
Все результаты достоверные по сравнению с контролем ПММА ($p < 0,05$)

Перспективность разработанного способа модификации полимерных материалов для практической клинической стоматологии была продемонстрирована при курировании пациентки, прошедшей хирургическое лечение и гамма-терапию рака слизистой оболочки щеки. В течение года наблюдения за пациенткой, имеющей склонность к образованию красного плоского лишая на фоне сниженного местного и общего иммунитета, была достигнута устойчивая ремиссия, а слизистой ротовой полости не возникало никаких патологических элементов и новых образований. Сама пациентка не предъявляла жалоб на дискомфорт при ношении протеза и отмечала повышение качества жизни.

Таким образом, ЭПП и ГП являются эффективным и перспективным инструментом модификации природных и синтетических полимеров с целью получения биоактивных низкомолекулярных соединений и материалов, обладающих улучшенной биосовместимостью с тканями организма. Полученные в результате обработки в ЭПП и ГП продукты модификации являются потенциально интересными для использования в практической стоматологии, челюстно-лицевой хирургии, а также фармацевтике и косметической промышленности.

Литература

1. K-D. Weltmann, J.F. Kolb, M. Holub, et al. The future for plasma science and technology // Plasma Process. Polym., 2018, 16, 1800118.
2. Th. von Woedtke, S. Reuter, K. Masura, et al. // Plasmas for medicine, Phys. Rep., 2013, 530, 291-320.
3. K-D. Weltmann, Th. von Woedtke, Plasma medicine - current state of research and medical application // Plasma Phys. Controlled Fus., 2016, 59, 0140331.
4. M. Vasiliev, T. Vasilieva, Aung Myat Hein. Hybrid plasma-chemical reactors for bio-polymers processing // J. Phys. D: Appl. Phys., 2019, 52, 335202.