

ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ПЛАЗМЕННЫХ СТРУЙ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Евтина А.А.^{1,2}, Булдаков М.А.², Нехорошев В.О.³, Ландль Н.В.³, Чердынцева Н.В.^{1,2},
Королев Ю.Д.³

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет
г. Томск, РФ

² Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН

г. Томск, РФ, e-mail: anastasiya10152@gmail.com

³ Институт сильноточной электроники СО РАН
г. Томск, РФ

Поступила в редакцию: 15.07.2021

Аннотация. Существующая литература демонстрирует наличие противоопухолевого действия низкотемпературной плазмы как *in vitro* на разных клеточных линиях, так и *in vivo*. Данное направление интенсивно изучается в последнее время, однако, исследования осложняются ввиду большого разнообразия объектов исследования и недостаточной изученности плазменных струй. В данной работе изучалось влияние низкотемпературной плазменной струи на пролиферацию опухолевых клеток HeLa как в различных режимах обработки клеточной культуры, так и при вариации параметров источника плазмы. Низкотемпературные плазменные струи были получены на основе импульсного электрического разряда, поддерживаемого в потоке воздуха при атмосферном давлении. С целью поиска оптимальных условий варьировались частота следования импульсов напряжения от 0,5 до 4,2 кГц, время экспозиции от 30 до 240 с, количество повторов обработки и длительность паузы между повторами (10 минут, 24 часа, 72 часа). Было показано, что данный тип физического воздействия способен подавлять рост опухолевых клеток до 85% по сравнению с группой контроля. Данный эффект зависит как от частоты следования импульсов тока разряда, так и от времени воздействия. Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования низкотемпературных плазменных струй для подавления пролиферации опухолевых клеток.

Ключевые слова: низкотемпературная плазма, разряд в потоке газа, плазменная струя, онкология, пролиферация, HeLa.

В настоящее время большинство людей в мире умирает по причине возникновения злокачественных новообразований. За последние 10 лет заболеваемость раком в мире выросла на 33% [1]. Поэтому онкологические заболевания широко признаны как угроза глобальному развитию мирового населения. Универсального лечения злокачественных новообразований не найдено, поскольку результат терапии во многом зависит как от чувствительности самих опухолевых клеток, так и от типа и характеристик воздействующего фактора. На современном этапе развития достигнуты определенные успехи, которые связаны с усовершенствованием методик хирургии, лучевой терапии, химиотерапии. Данные методики хорошо зарекомендовали себя благодаря высоким терапевтическим эффектам, однако, несмотря на их достоинства, у них существует один большой недостаток – помимо опухолевых клеток, страдают и нормальные, окружающие опухоль ткани. Комплекс побочных эффектов терапии приводит к снижению качества жизни пациентов, увеличению сроков лечения, а в ряде случаев и к отказу от данного вида терапии. Следовательно, проблема повышения эффективности лечения злокачественных новообразований и снижения побочных эффектов является чрезвычайно актуальной.

Для решения вышеописанной проблемы необходима методика терапии онкологических заболеваний, дающая выраженный противоопухолевый эффект при минимальном негативном влиянии на окружающие опухоль здоровые ткани. В представленной работе рассматривается влияние низкотемпературной плазменной струи, получаемой на основе разряда атмосферного давления в потоке воздуха, как физического фактора воздействия на опухолевые клетки.

В общем случае, плазменные струи формируются на выходе электродной системы в условиях, когда газ проходит через область плазмы разряда. Таким образом, в струе содержатся различные химически и биологически активные частицы, что обуславливает широкий спектр применения таких систем [2-4]. Благодаря наличию в плазме свободных радикалов и активных молекул, таких как озон, супероксид-анион, диоксид азота и других, она может применяться в биомедицинских исследованиях, связанных со стерилизацией, изменением свойств поверхности биоматериала, заживлением ран, свертыванием крови, а также лечением рака [5-8].

Обзор имеющейся литературы в области терапии злокачественных новообразований показал, что после прямого воздействия низкотемпературной плазмой на опухолевые клетки наблюдается противоопухолевый эффект для различных типов рака *in vitro* и *in vivo* [9-13]. Первые исследования, демонстрирующие противоопухолевое действие плазмоактивированной среды (ПАМ) на клеточные линии глиобластомы, были проведены группой ученых во главе с Танаком [14]. Эксперименты *in vitro* показали изменение физиологического состояния опухолевых клеток, приводящее к апоптозу или некрозу, в зависимости от типа клеток и параметров

воздействия (мощность разряда, время воздействия) [15]. Также было отмечено, что плазма может не только продуцировать активные радикалы в окружающую среду, но и индуцировать генерацию активных форм кислорода (АФК) в клетках, приводя к их гибели [7,16]. В экспериментах, проведенных *in vivo*, было зафиксировано снижение роста подкожных опухолей у мышей, а также стимуляция иммунного ответа на прогрессирование опухоли [3].

При исследовании действия плазменной струи на клеточные линии меланомы было показано, что струя способна не только индуцировать клеточную гибель посредством собственных продуктов, но и восстанавливать чувствительность химиорезистентных раковых клеток к определенным лекарствам. Одним из примеров является то, что обработка плазмой вызвала синергическую цитотоксичность доксорубицина и эпирубицина, что приводило к усилению реакции повреждения ДНК (усиление фосфорилирования АТМ, очагов γ -H2AX и образование микроядер) [17]. Другим примером является то, что после обработки плазменной струей наблюдалось восстановление чувствительности резистентных к темозоломиду (TMZ) клеток глиобластомы после терапии TMZ [18]. Также было показано восстановление чувствительности к препаратам клеток колоректального рака, изначально резистентных к лиганду, индуцирующему апоптоз (TRAIL) [19]. Кроме того, главной и отличительной особенностью плазмы является ее селективное воздействие на различные типы клеток, выраженное в подавлении роста опухолевых клеток и стимуляции функций здоровых, например, стволовых [7, 21].

Несмотря на перспективность использования плазменных струй в терапии злокачественных новообразований, на сегодняшний день практически отсутствует информация о механизмах действия плазменных струй на опухолевые и нормальные клетки. Необходимы исследования по поиску оптимальных режимов воздействия струи, приводящих к опухоль-повреждающему действию при условии сохранения либо незначительного подавления функций нормальных клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была проведена на культуре опухолевых клеток линии HeLa (Российская коллекция клеточных культур позвоночных, ИИЦ РАН, Санкт-Петербург) – рак шейки матки. Клетки инкубировали в чашках Петри во влажной среде, содержащей 5% CO₂, при температуре 37 °С. Для культивирования клеток использовалась среда RPMI-1640 (Панэко, Россия), содержащая 10% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки (Biosera, Франция) и 5% антибиотика (пенициллин, стрептомицин) (Панэко, Россия). Перед обработкой опухолевые клетки были посажены в чашки Петри площадью 9,2 см² в количестве 150 тыс. клеток и инкубировались не менее 24 часов.

Схема экспериментальной установки для получения низкотемпературной плазменной струи приведена на рисунке 1.

Плазменная струя формируется на основе импульсного электрического разряда, поддерживаемого в потоке воздуха. Разряд зажигается в электродной системе, состоящей из кварцевой трубки 1 (внутренний диаметр 10 мм, толщина стенки около 1 мм), внутри которой размещен спиралевидный электрод 2 из нержавеющей стали (диаметр проволоки 0,5 мм, диаметр витка 5 мм, длина намотки 25 мм). Внешний (заземленный) электрод 3 выполнен в виде цилиндра из алюминиевой фольги толщиной 9 мкм и длиной 40 мм, плотно прилегающего к внешней стенке трубки 1. Изогнутое сопло 4 изготовлено из силиконовой трубки внутренним диаметром 12 мм и длиной 30 см. Поток воздуха с величиной массового расхода до 0.05 г/с и относительной влажностью от 30 до 40% способствует формированию плазменной струи и обеспечивает перенос активных частиц из области плазмы разряда через сопло 4 на обрабатываемый образец 5. Поскольку область плазмы разряда расположена на значительном расстоянии от выходного отверстия сопла, на выходе из системы отсутствуют электрические поля,

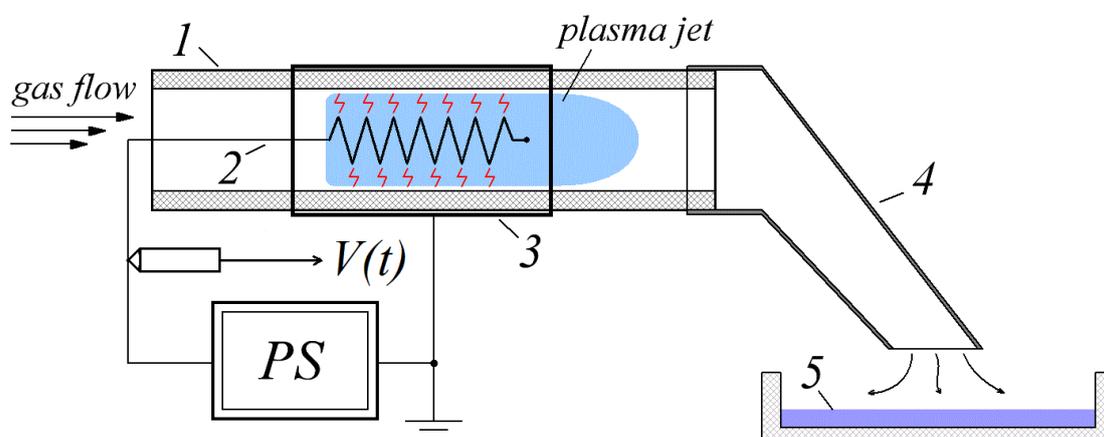


Рисунок 1. Упрощенная схема экспериментальной установки для обработки клеток низкотемпературной плазменной струей при атмосферном давлении

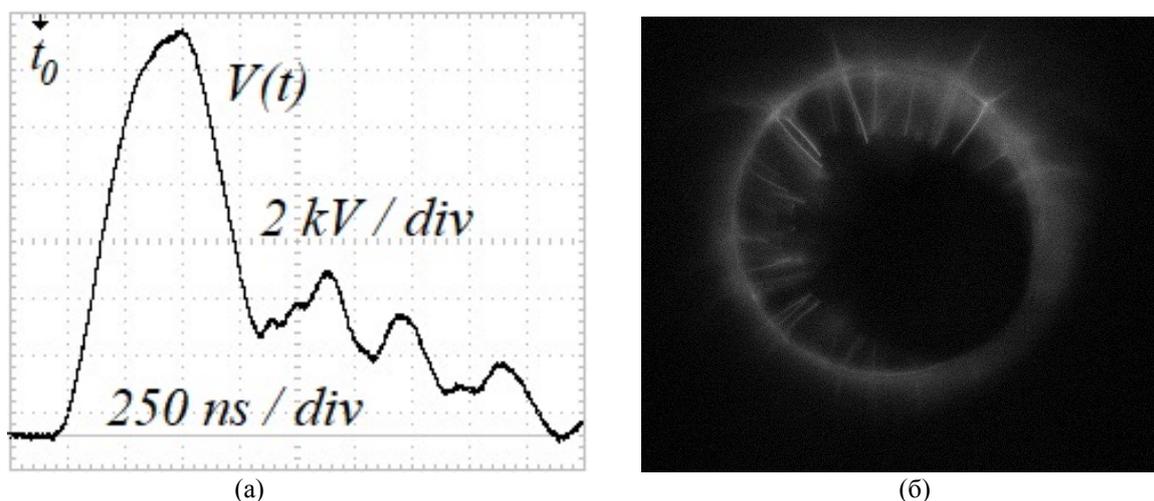


Рисунок 2. Осциллограмма импульса напряжения $V(t)$ на внутреннем электроде (а), совместно с картиной свечения разряда (б). Момент времени t_0 соответствует началу экспозиции CCD-камеры

ультрафиолетовое излучение. Обработка производится, в основном, химически активными соединениями и метастабильными частицами, имеющими значительное время жизни, превышающее 1 с. В предварительных экспериментах с помощью газоанализаторов ПЭМ-2М и Циклон-5 исследовался состав газа в струе на выходе из системы. Выявлено, что в состав газа в струе входят озон в концентрации до $0,5 \text{ г/м}^3$, пероксид водорода и оксиды азота в малых количествах. Несмотря на относительно низкую концентрацию, эти соединения обладают высокой реакционной способностью и могут изменять физиологическое состояние клеток [22].

Источник питания PS обеспечивает зажигание и поддержание разряда в потоке воздуха. На рисунке 2(а) приведена типичная осциллограмма импульса напряжения положительной полярности на газоразрядном промежутке $V(t)$, полученная с помощью высоковольтного пробника Tektronix P6015A и осциллографа Tektronix TDS1012B. На рисунке 2(б) показано фото свечения разряда, полученное с помощью быстродействующей CCD-камеры SensiCam 12bit.

Из осциллограммы на рис.2(а) видно, что на потенциальном электроде 2 формируется импульс напряжения амплитудой до 15 кВ с временем переднего фронта менее 300 нс и активной длительностью импульса на уровне 800 нс. Частота следования импульсов регулируется в диапазоне от 500 Гц до 4,2 кГц. Емкость диэлектрического барьера, находящегося в газоразрядном промежутке, ограничивает поступление энергии в плазму. Таким образом, при емкости барьера 5.6 пФ, максимальной частоте следования импульсов напряжения 4,2 кГц и амплитуде напряжения 15 кВ, уровень электрической мощности, вводимой в плазму разряда, оценивается на уровне 3 Вт. При вариации частоты следования импульсов напряжения изменяется, соответственно, мощность, вводимая в плазму разряда, что влияет на температуру газа на выходе из трубки 1. При максимальной частоте следования импульсов напряжения и указанной величине массового расхода воздуха температура газа в струе не превышала 45 С непосредственно на торце трубки 1. Температура газа измерялась с помощью термопары и цифрового термометра ТМ-902С. В ходе эксперимента температура газа в струе на выходе из сопла 4 не превышала 38 С.

На изображении, приведенном на рисунке 2(б), видно, что картина свечения представлена серией микроразрядов, протекающих в промежутке между спиральным электродом и внутренней поверхностью трубки 1. Камера располагалась под небольшим углом относительно оси газоразрядной системы. За время экспозиции 30 мкс развивается большое количество микроразрядов с контрагированным столбом плазмы, заполняющих объем газоразрядного промежутка. В связи с импульсным характером процесса, газоразрядные явления в промежутке можно классифицировать как совокупность большого количества искровых разрядов, в которых длительность импульса тока и суммарная энергия в импульсе ограничивается емкостью диэлектрического барьера. Кроме того, при повышенной частоте следования импульсов возможно протекание тока через остаточную плазму предшествующих разрядов.

В ходе работы изучался эффект воздействия низкотемпературной плазменной струи на опухолевые клетки линии HeLa как в различных режимах работы источника плазмы, так и при различных режимах обработки клеточной культуры. Для поиска оптимальных условий варьировались следующие параметры: частота следования импульсов напряжения (0,5-4,2 кГц), время экспозиции (от 30 до 240 с), количество повторов обработки (одно-, дву- и четырехкратное), время между повторами обработки (10 минут, 24 часа, 72 часа).

Жизнеспособность клеток была измерена с помощью МТТ-теста на 1-е и 5-е сутки после воздействия низкотемпературной плазмы. Анализ основан на измерении метаболической активности клеток [23]. К клеткам добавляли 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид тетразолий (МТТ) в конечной концентрации 5 мг/мл, затем клетки инкубировали в течение 4 часов. В течение этого времени метаболически активные клетки восстанавливают соли тетразолия (МТТ) до фиолетовых формазановых соединений, которые нерастворимы в воде и осаждаются в клетках. После инкубации супернатант удаляли, а осадок растворяли

диметилсульфоксидом (ДМСО). Затем измеряли оптическую плотность полученных растворов с помощью спектрофотометра (Thermo Scientific Multiskan FC, США) на длине волны 620 нм. Проллиферативная активность клеток выражена в виде индекса ингибирования I , который рассчитывается по формуле:

$$I = \frac{A-B}{A} * 100\%,$$

где A – значение оптической плотности в группе контроля; B – значение оптической плотности в опытной группе.

В качестве контроля во всех экспериментах использовались культуры клеток, подвергавшиеся всем аналогичным манипуляциям, что и обработанные плазмой, за исключением самого фактора воздействия. Полученные результаты подвергали статистической обработке, при которой рассчитывалась средняя арифметическая величина показателя, его стандартное отклонение (при уровне значимости $p < 0,05$). Значимость различий определялась с помощью непараметрического критерия Уилкоксона. Все статистические процедуры были проведены с помощью программного обеспечения Statistica 12.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам экспериментов было показано, что воздействие струей низкотемпературной плазмы атмосферного давления приводит к ингибированию пролиферативной активности клеток HeLa. При изменении режимов воздействия параметров установки были получены зависимости клеточной пролиферации от частоты, времени экспозиции и количества повторов обработки клеток (рис. 3-5).

Для установления частотной зависимости ингибирования пролиферативной активности опухолевых клеток был проведен эксперимент с варьированием частот повторения импульсов напряжения в диапазоне от 0,5 до 4,2 кГц (рис. 3).

В соответствии с результатами измерений, при повышении частоты следования импульсов увеличивается концентрация активных частиц и озона на выходе из системы. Однако, после достижения определенной концентрации дальнейшее ее повышение не оказывает значимого эффекта на пролиферацию клеток. Было установлено, что наибольшее снижение клеточного роста наблюдается в группе с частотой 2 кГц и временем экспозиции 240 с. Ингибирование пролиферативной активности опухолевых клеток HeLa в данной группе составило 49% на 1-е сутки после воздействия низкотемпературной плазмой.

В ходе поиска оптимального времени экспозиции были проведены опыты с различным временем обработки от 30 до 240 с (рис. 4).

Из результатов эксперимента следует, что время воздействия плазмой влияет на клеточный ответ. Максимальное значение индекса ингибирования пролиферации (более 40%) наблюдалось в группах с временем воздействия 180 и 240 с. Однако, с увеличением времени воздействия в два раза (от 120 до 240 секунд) статистически значимых различий между группами практически не наблюдалось. Поэтому для дальнейшего исследования время экспозиции 120 с было определено как оптимальное.

Дополнительно были проведены исследования с повторной обработкой опухолевых клеток в выбранном режиме работы источника плазмы (рис. 5).

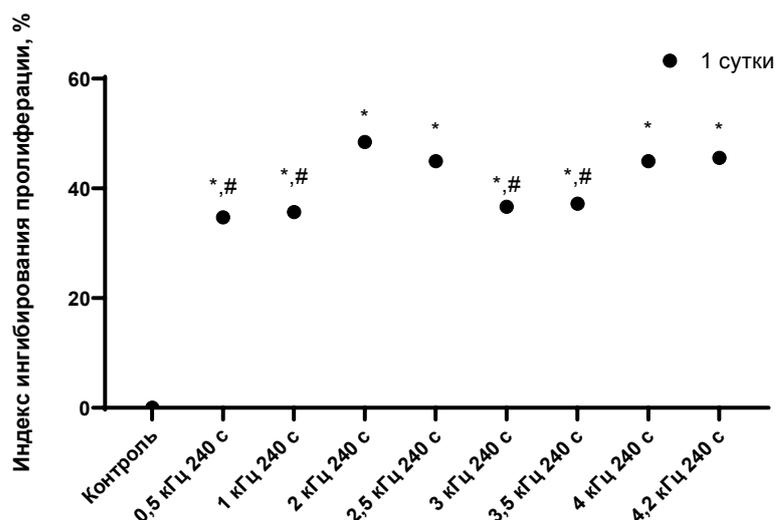


Рисунок 3. Индекс ингибирования пролиферативной активности клеток HeLa на 1-е сутки после воздействия плазменной струи атмосферного давления с разными частотами разряда. Примечание: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; # – 2 кГц 240 с

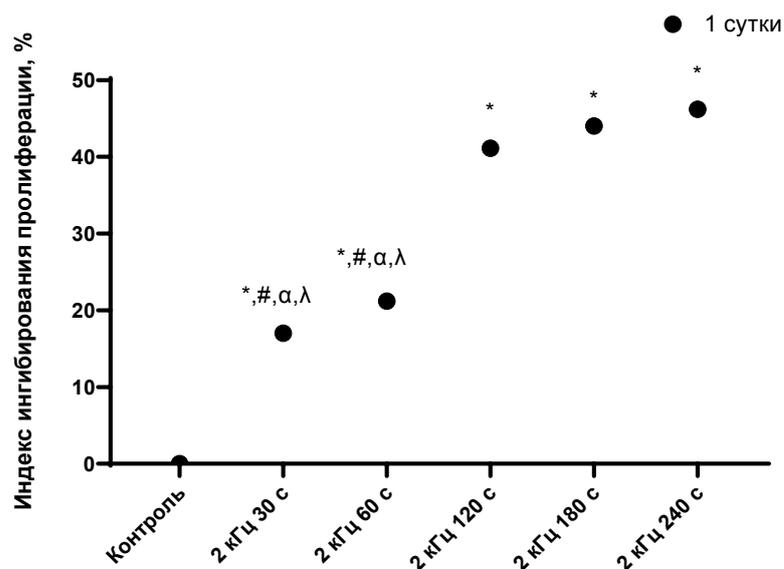


Рисунок 4. Индекс ингибирования пролиферативной активности клеток HeLa на 1-е сутки после воздействия плазменной струи атмосферного давления с разным временем экспозиции. Примечание: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; # – 2 кГц 120 с; α – 2 кГц 180 с; λ – 2 кГц 240 с

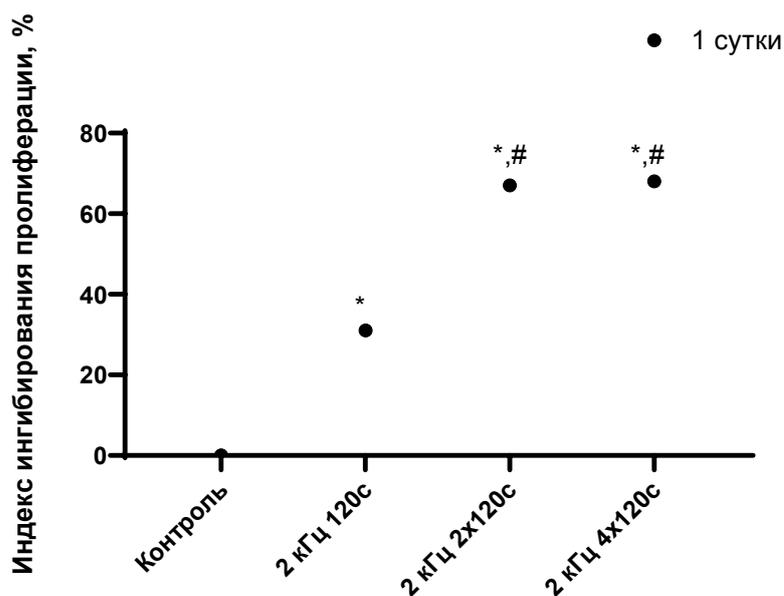


Рисунок 5. Индекс ингибирования пролиферативной активности клеток HeLa на 1-е сутки после воздействия плазменной струи атмосферного давления с разным количеством повторов обработки. Примечание: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; # – 2 кГц 120 с

В ходе работы показано, что двукратная обработка клеток HeLa приводит к большему снижению пролиферативной активности, чем однократная. Однако, при четырехкратном воздействии плазмой не было обнаружено увеличения исследуемого показателя, что может быть связано с насыщением химически активными частицами объема обрабатываемой среды. Таким образом, на 1-е сутки индекс ингибирования пролиферации 68% достигается при двукратной обработке с повторением через 10 минут. Дальнейшее повышение кратности повторения обработки не оказывает видимого влияния на пролиферативную активность клеток HeLa.

Далее было проведено исследование по влиянию времени между первой и повторной обработкой на ингибирование клеточной пролиферации (рис. 6). Обработка плазменной струей осуществлялась с повторением через 10 минут, 24 часа и 72 часа после первой обработки.

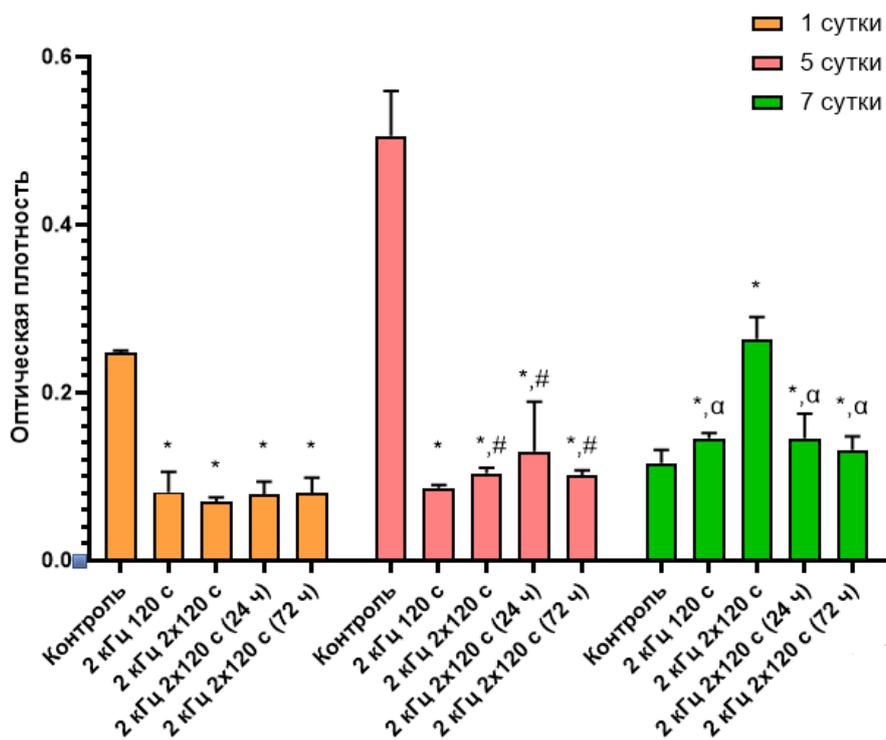


Рисунок 6. Пролиферативная активность клеток HeLa на 1-е, 5-е и 7-е сутки после воздействия плазменной струи атмосферного давления с разными параметрами обработки. Примечание: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля; # – 2 кГц 120 с

Выявлено, что изменение времени между повторами слабо влияет на пролиферативную активность. Более того, на 5-е сутки после воздействия плазмой наблюдались статистически значимые различия между группами с двукратной и однократной обработкой. Однако, максимальное значение ингибирования пролиферативной активности опухолевых клеток было обнаружено в группе с однократным воздействием (2 кГц 120 с) и достигало 85%. Следует отметить, что пролиферативная активность в опытных группах практически не отличается на 1-е и 5-е сутки после плазменной обработки, что свидетельствует о её остановке или прекращении. Кроме того, в ходе эксперимента было обнаружено снижение пролиферативной активности опухолевых клеток к 7-м суткам в контрольной группе, что связано с недостатком питательных веществ, поскольку в течение всего времени не производилась смена среды.

Таким образом, в ходе работы было показано, что обработка плазменными струями при атмосферном давлении при времени воздействия в диапазоне от 30 до 240 секунд и различной кратности воздействия плазмой может ингибировать пролиферативную активность опухолевых клеток человека *in vitro*. Ингибирование пролиферативной активности клеток HeLa было максимальным после однократного воздействия с частотой 2 кГц и длительностью воздействия 120 с и наиболее выражено на 5-е сутки после обработки. Исходя из полученных данных можно сделать вывод о высоком потенциале использования низкотемпературной плазмы как противоопухолевого агента.

Список литературы / References:

1. *Новости онкологии*: [Электронный ресурс]. URL: <http://www.oncology.ru/news/2019/10/14/> (Дата обращения: 10.02.2021). [*Oncology news* (In Russ.)]
2. Park G.Y., Park S.J., Choi M.Y., Koo I.G., Buyn J.H., Hong J.H., Sim J.Y., Collins G.J., Lee J.K. Atmospheric-pressure plasma sources for biomedical applications. *Plasma Sources Sci Technol.*, 2012, vol. 21, no. 4, p. 043001. doi: 10.1088/0963-0252/21/4/043001
3. Korolev Y.D., Frants O.B., Landl N.V., Geyman V.G., Matveev I.B. Nonsteady-state gas-discharge processes in plasmatron for combustion sustaining and hydrocarbon decomposition. *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 2009, vol. 37. doi: 10.1088/2399-6528/ab361a
4. Lu X., Naidis G.V., Laroussi M., Reuter S., Graves D.B., Ostrikov K. Reactive species in non-equilibrium atmospheric-pressure plasmas: Generation, transport, and biological effects. *Physics Reports*, 2016, vol. 630, no. 1. doi: 10.1016/j.physrep.2016.03.003
5. Laroussi M. Low-temperature plasma jet for biomedical applications: a review. *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 2015, vol. 43, no. 703. doi: 10.1109/TPS.2015.2403307

6. Dayun Y., Haijie X., Wei Z., Niki N., Lijie Grace Z., Ka B., Keidar M. The role of aquaporins in the anti-glioblastoma capacity of the cold plasma-stimulated medium. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2017, vol. 50, no. 055401. doi: 10.1088/1361-6463/aa53d6
7. Isbary G., Koritzer J., Mitra A. et al. Ex vivo human skin experiments for the evaluation of safety of new cold atmospheric plasma devices. *Clinical Plasma Medicine*, 2013, vol. 1. doi: 10.1016/J.CPME.2012.10.001
8. Graves D.B. Low temperature plasma biomedicine: A tutorial review. *Phys. Plasmas*, 2014, vol. 21. doi: 10.1063/1.4892534
9. Akishev Y.S. Non-thermal plasma at atmospheric pressure and its opportunities for applications. *Izv. Vyssh. Ucheb. Zaved., Khim. Khim. Tekhnol.*, 2019, vol. 62, no. 26. doi: 10.6060/ivkkt.20196208.5908
10. Zimu Xu., Yan Lan, Jie Ma, Jie Shen et al. Applications of atmospheric pressure plasma in microbial inactivation and cancer therapy: a brief review. *Plasma Sci. Technol.*, 2020, vol. 22. doi: 10.1088/2058-6272/ab9ddd
11. 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. *Tumor Biology*, 2016, vol. 37. doi: 10.1007/s13277-016-4911-7
12. Schneider C., Arndt S., Zimmermann J.L., Li Y. et al. Cold atmospheric plasma treatment inhibits growth in colorectal cancer cells. *Biological Chemistry*, 2018. doi: 10.1515/hsz-2018-0193
13. Keidar M., Walk R., Shashurin A., Srinivasan P., Sandler A., Dasgupta S., Ravi R., Guerrero-Preston R., Trink B. Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy. *British journal of cancer*, 2011, vol. 105, no. 9. doi: 10.1038/bjc.2011.386
14. Utsumi F., Kajiyama H., Nakamura K., Tanaka H. et al. 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, vol. 8, no. 12. DOI: 10.1371/journal.pone.0081576
15. Tanaka H., Mizuno M., Katsumata Y., Ishikawa K., Kondo H. et al. Oxidative stress-dependent and -independent death of glioblastoma cells induced by non-thermal plasma-exposed solutions. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9. doi: 10.1371/journal.pone.0247589
16. Miller V., Lin A., Fridman A. Why Target Immune Cells for Plasma Treatment of Cancer. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2016, vol. 36. doi: 10.1007/s11090-015-9676-z.
17. Fridman A. *Plasma Chemistry* (Cambridge University Press, New York), 2008.
18. Yan D., Sherman J.H., Cheng X., Ratovitski E., Canady J., Keidar M. Controlling plasma stimulated media in cancer treatment application. *Applied Physics Letters*, 2014, vol. 105, no. 22. doi: 10.1063/1.4902875
19. Ishaq M., Han Z.J., Kumar S., Evans M.D., Ostrikov K. Atmospheric-pressure plasma- and TRAIL-induced apoptosis in TRAIL-resistant colorectal cancer cells. *Plasma Processes and Polymers*, 2015, vol. 12, no. 6. doi: 10.1002/ppap.201400207
20. Gamaleev V., Iwata N., Ito G., Hori M., Hiramatsu M., M. Ito. Scalable treatment of flowing organic liquids using ambient-air glow discharge for agricultural applications. *Appl. Sci.*, 2020, vol. 10. doi: 10.3390/app10030801
21. Kawasaki T., Mitsugi F., Koga K., Shiratani M. Local supply of reactive oxygen species into a tissue model by atmospheric-pressure plasma-jet exposure. *J. Appl. Phys.*, 2019, vol. 125. doi: 10.1063/1.5091740
22. Korolev Y.D., Frants O.B., Landl N.V., Kasyanov V.S., Galanov S.I., Sidorova O.I., Kim Y., Rosocha L.A., Matveev I.B. Propane oxidation in a plasma torch of a low-current nonsteady-state plasmatron. *IEEE Trans. Plasma Sci.*, 2012, vol. 40. doi: 10.1109/TPS.2011.2176557
23. Tolosa L., Donato M.T., Gomez-Lechon M.J. General Cytotoxicity Assessment by Means of the MTT Assay Protocols in In Vitro Hepatocyte Research. *Methods Mol Biol*, 2015, vol. 1250. doi: 10.1007/978-1-4939-2074-7_26

EFFECT OF LOW-TEMPERATURE PLASMA JETS ON TUMOR CELL PROLIFERATION**Evtina A.A.^{1,3}, Buldakov M.A.³, Nekhoroshev V.O.², Landl N.V.², Cherdyntseva N.V.^{1,3},
Korolev Y.D.²**¹ National research Tomsk state university
*Tomsk, Russia*² Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
*Tomsk, Russia; e-mail: anastasiya10152@gmail.com*³ Institute of High Current Electronics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences
Tomsk, Russia

Abstract. The existing literature demonstrates the presence of antitumor effect of low-temperature plasma both in vitro on different cell lines and in vivo. This area has been intensively studied recently, however, research is complicated due to the large variety of research objects and insufficient knowledge of plasma jets. In this paper, the effect of a low-temperature plasma jet on the proliferation of HeLa tumor cells was studied. Results of experiments in different modes of cell culture processing and with variations in the parameters of the plasma source were presented. Low-temperature plasma jets were obtained using of a pulsed electric discharge sustained in the air flow at atmospheric pressure. In order to find optimal conditions, the repetition frequency of voltage pulses from 0.5 to 4.2 kHz, the exposure time from 30 to 240 s, the number of processing repetitions and the duration of the pause between repetitions (10 minutes, 24 hours, 72 hours) were varied. It was shown that this type of physical impact is able to suppress the growth of tumor cells up to 85% compared to the control group. This effect depends both on the repetition frequency of the discharge current pulses and on the time of exposure. The obtained data show the prospects of using low-temperature plasma jets to suppress the tumor cells proliferation.

Key words: *low-temperature plasma, discharge in a gas stream, plasma jet, oncology, proliferation, HeLa.*