https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-104-115

ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЫ НА КЛЕТКИ

ОЛОВЯННИКОВА Р.Я.[1], МАКАРЕНКО Т.А.[1], ЛЫЧКОВСКАЯ Е.В.[1], ГУДКОВА Е.С.[1], МУРАДЯН Г.А.[1], МЕДВЕДЕВА Н.Н.[1], ЧЕКИШЕВА Т.Н.[1], БЕРДНИКОВ С.И.[2], СЕМИЧЕВ Е.В.[2], МАЛИНОВСКАЯ Н.А.[1]*, САЛМИНА А.Б.[1], САЛМИН В.В.[1]

[1]ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия
[2]ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», г. Красноярск, Россия

Резюме

Холодная плазма (ХП) в воздухе над поверхностью суспензий клеток или биологических тканей рассматривается как генератор активных форм кислорода и азота, ионов, сольватированных/акватированных электронов. В обзоре литературы проанализированы современные представления о реализации эффектов ХП в живых системах (с акцентом на роль свободных радикалов и других частиц, генерируемых ХП, в химической модификации биомакромолекул и регуляции сигнальной трансдукции в клетках). Обобщены данные о влиянии продуктов ХП на внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс, митохондриальный биогенез, а также клеточные мембраны и органеллы. Обсуждаются ключевые механизмы транспорта продуктов ХП через биологические мембраны с участием механизмов активного транспорта и диффузии. Предполагается, что экспрессия различных транспортных систем будет существенным образом отличаться в клетках на разных стадиях развития, с разным пролиферативным потенциалом, а также в условиях патологии, что определяет важность экспериментальных исследований на разнообразных модельных клеточных системах для оценки того, насколько данная популяция клеток чувствительна к эффектам продуктов, генерируемых ХП. Обсуждаются варианты распространения эффектов ХП вглубь ткани, если генерируемые ХП короткоживущие частицы действуют на клетки ткани с ее поверхности. Приведены данные о том, что воздействие ХП на ткань может быть осуществлено не только непосредственно разрядом, но и растворами, обработанными ХП (фосфатный буфер, раствор Рингера, питательная среда), состав и pH которых после обработки ХП будут существенно различаться, что определяет новые возможности применения самой ХП и растворов, обработанных ХП, в медицине. Изучение молекулярных механизмов действия ХП на биологические системы включает анализ событий, связанных с генерацией и аккумуляцией активных форм кислорода, нейтральных соединений, сольватированных электронов, идентификацию новых клеточных мишеней их действия, что обеспечит создание эффективных и безопасных протоколов применения ХП в биологии и медицине.

Ключевые слова: неравновесная холодная плазма, активные формы кислорода, активные формы азота, перекись водорода, редокс-баланс, митохондрии, пероксисомы

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке гранта ККФПНиНТД (договор № 1/20 от 15.05.2020 г.).

Для цитирования:
Оловянникова Р.Я., Макаренко Т.А., Лычковская Е.В., Гудкова Е.С., Мурадян Г.А., Медведева Н.Н., Чекишева Т.Н., Бердников С.И., Семичев Е.В., Малиновская Н.А. , Салмина А.Б., Салмин В.В. Химические механизмы действия холодной плазмы на клетки. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2020; 5(4): 104-115. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-104-115

Корреспонденцию адресовать:
Малиновская Наталия Александровна, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1, e-mail: malinovskaya-na@mail.ru
© Оловянникова Н.А. и др.

REVIEW ARTICLES

CHEMICAL MECHANISMS OF NON-THERMAL PLASMA ACTION ON CELLS

RAISA YA. OLOVYANNIKOVA[1], TATIANA A. MAKARENKO[1], ELENA V. LYCHKOVSKAYA[1], ELIZAVETA S. GUDKOVA[1], GOAR A. MURADYAN[1], NADEZHDA N. MEDVEDEVA[1], TATIANA N. CHEKISHEVA[1], SERGEY I. BERDNIKOV[2], EVGENIY V. SEMICHEV[2], NATALIA A. MALINOVSKAYA[1]**, ALLA B. SALMINA[1], VLADIMIR V. SALMIN[1]

[1]*Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation*
[2]*Federal Siberian Research Clinical Centre, Federal Medical Biological Agency, Krasnoyarsk, Russian Federation*

English

Abstract

Non-thermal plasma (NTP) in the air around the cell layer or biological tissues is considered as a generator of reactive oxygen and nitrogen species, ions, and solvated/aquated electrons. This review covers current understanding on the effects of NTP in living systems, with the focus on the role of free radicals and other NTP-generated particles in the chemical modification of biomacromolecules and regulation of signal transduction. We summarise recent data on the impact of NTP-originated products on intracellular redox balance, mitochondrial biogenesis, cell membranes and organelles. In addition, we discuss the transport of NTP products across the biological membranes. Since the expression of numerous transporter systems differs at various stages of development, distinct cell lines, and in pathological conditions, experiments on NTP effects should be designed in various models for the assessment of cell- and tissue-specific response. Notably, NTP effects are observed throughout the whole tissue even when particles are generated at the surface. Special attention is paid to the NTP-treated solutions (phosphate buffered saline, Ringer's solution, cell culture medium) as their composition and pH can be significantly altered. However, these data also suggest novel opportunities for the application of NTP and NTP-treated solutions in biomedicine. Studies on the mechanisms of NTP action on biological systems should contain analysis of events coupled to generation and accumulation of reactive oxygen and nitrogen species, neutral compounds, solvated electrons, and detection of new cellular targets of their action. This would allow developing of efficient and safe protocols for NTP applications in biology and medicine.

Keywords: atmospheric non-thermal plasma, reactive oxygen species, reactive nitrogen species, hydrogen peroxide, redox balance, mitochondria, peroxisomes

Conflict of Interest

None declared.

Funding

The work is supported by the grant of the Krasnoyarsk Regional Foundation for Support of Research and Technical Activity (Agreement N 1/20, 15.05.2020).

For citation:

Raisa Ya. Olovyannikova, Tatiana A. Makarenko, Elena V. Lychkovskaya, Elizaveta S. Gudkova, Goar A. Muradyan, Nadezhda N. Medvedeva, Tatiana N. Chekisheva, Sergey I. Berdnikov, Evgeniy V. Semichev, Natalia A. Malinovskaya , Alla B. Salmina, Vladimir V. Salmin. Chemical mechanisms of non-thermal plasma action in cells. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2020; 5(4): 104-115. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-4-104-115

Corresponding author:

Dr. Natalia A. Malinovskaya, 1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, Russian Federation, 660022, e-mail: malinovskaya-na@mail.ru
© Raisa Ya. Olovyannikova et al.

Холодная плазма и генерируемые ею продукты

Химия свободных радикалов – большой и актуальный раздел современной биохимии. Несмотря на то, что изучение свободных радикалов имеет многолетнюю историю, а вклад свободно-радикального окисления биологических молекул в патогенез широкого круга заболеваний является доказанным фактом, по-прежнему сохраняется интерес к изучению продукции свободных радикалов в живых организмах, в том числе в контексте реализации ими физиологически значимых функций, сопряженных с процессами сигнальной трансдукции, метаболизма, детоксикации. Не менее интересным является изучение действия внешних факторов

физической и химической природы, которые обладают способностью индуцировать свободные радикалы в живых системах, либо сами генерируют свободные радикалы, которые затем могут быть использованы для реализации эффектов в отношении биомакромолекул в клетках и во внеклеточном пространстве.

В этом контексте значительный интерес представляет т.н. «холодная» (неравновесная) плазма (ХП) − ионизированный газ, имеющий низкую температуру нейтральных частиц и ионов, но с большой температурой электронов. Электроны имеют энергию порядка десятков электрон-вольт, что приводит к возбуждению молекул и атомов и в газовой среде, и на поверхности материала, с которым неравновесная плазма взаимодействует, не вызывая термического эффекта. Один из способов получения ХП – барьерный разряд (импульсный разряд, который происходит в воздушном промежутке между обкладками конденсатора, одна из которых или обе могут быть закрыты диэлектрическими барьерами). В случае воздействия на жидкость газовая фаза ХП электрически сопряжена с поведением электролитов водной фазы, поэтому электроны газовой фазы как основные компоненты ХП взаимодействуют с водой и, будучи в гидратированной форме, вызывают образование других химических продуктов (например, H_2, OH^-, H_2O_2, $O_2^{-\bullet}$, $HO_2^\bullet$, HO_2^-, NO_2 , NO_3 и др.) и формирование значимого градиента pH, проникая на расстояние от 2,5 до 20 нм от поверхности раздела фаз [1,2]).

Экспериментально установлено, что ХП выступает в качестве генератора активных форм кислорода – ионов кислорода, свободных радикалов, а также перекиси водорода [3]. Основными стабильными продуктами (с временем полужизни более 1 с) плазмохимических реакций в барьерном разряде в атмосферном воздухе являются озон (O_3) и оксиды азота различной валентности (NO_x), которые формируются в соотношении 100:1 при малых энергиях и до 10:1 − при больших. Но, главное, ХП приводит к образованию широкого спектра активных форм кислорода (АФК): короткоживущих свободных радикалов (супероксиданион радикала $^\bullet O_2^-$, гидропероксидного радикала $HO_2^\bullet$ и гидроксильного $HO^\bullet$ радикала, синглетного кислорода $^1O_2$), а также относительно долгоживущей перекиси водорода H_2O_2. Известно, что генерируемые ХП свободные радикалы способны легко и быстро повреждать липиды клеточных мембран, ДНК, модифицировать структуру белков [4]. Другие продукты ХП − N_2O, NO_2, N_2O_5, NO_3^- − образуются при окислении NO озоном или супероксиданион радикалом. Важным компонентом эффектов [5] ХП является озон [4,6]. Генерируемые ХП свободные радикалы и перекись водорода предлагаются в качестве участников реакций биокатализа (биотрансформация ксенобиотиков), терапии состояний, сопровождающихся развитием воспаления и аберрантных посттрансляционных трансформаций белков [7−9], роль озона и пероксинитрита $ONOO^-$ активно обсуждается в контексте бактерицидной активности ХП [10]. В целом установлено, что ХП может быть эффективным способом воздействия на биологические ткани для достижения различных эффектов: антибактериальный эффект и инактивация вирусов [11, 12], цитотоксическое действие в отношении трансформированных клеток и клеток с дисфункцией митохондрий [13], индукция гемолиза и изменение реологических свойств крови [14], стимуляция ангиогенеза [15], стимуляция заживления ран [16], индукция SASP (senescence-associated secretory phenotype − ассоциированного со старением секреторного фенотипа клеток) [17]. Таким образом, интерес к применению ХП в медицине и необходимость разработки эффективных и безопасных клинических протоколов [18] требуют расшифровки ключевых механизмов влияния плазмы на клетки и ткани.

Транспорт и механизмы реализации эффектов ХП в клетках и тканях

Исследования последних двух-трех десятилетий убедительно показали, что продукция активных форм кислорода и азота является естественным биологическим феноменом, ключевой вклад в эти процессы вносят различные ферментные системы клеток (цитохромы дыхательной цепи митохондрий, НАДФН-оксидаза фагоцитов, цитохром P450-ассоциированные ферменты биотрансформации ксенобиотиков, ферменты, генерирующие эйкозаноиды), а самим свободным радикалам принадлежит важная роль в регуляции физиологических механизмов. В частности, свободные радикалы контролируют пролиферацию и дифференцировку клеток (в том числе в составе клоногенных ниш), процессы апоптоза и аутофагии, участвуют в регуляции проницаемости ионных каналов клеточных мембран и внутриклеточных

кальциевых депо, контролируют активность редокс-чувствительных клеточных белков, участвуют в модуляции иммунного ответа, влияют на процессы, связанные с контролем конформации белков, стимулируют митохондриальный биогенез [19–22]. В последние годы активизировался интерес к изучению влияния свободных радикалов, в том числе формируемых при действии физических факторов, на клетки и скаффолды, используемые для решения задач регенеративной медицины: было показано, например, что развитие клеток на внеклеточном матриксе может быть существенным образом изменено при обработке матрикса ХП, что индуцирует ремоделирование матрикса и изменяет адгезию и пролиферативные свойства клеток на его поверхности при формировании хрящевой и костной ткани [23], что сообщает новые возможности в создании биосовместимых материалов, чьи свойства могут быть контролируемы активными формами кислорода [24]. Не менее интересны работы, актуализирующие возможности ХП для модификации мембран клеток: например, обработка ХП фосфолипидного бислоя как модели искусственной биологической мембраны вызывает формирование в бислое нанопор диаметром 10–50 нм, изменение текучести мембраны, что связано с эффектами реактивных форм кислорода, но не перекиси водорода или NO_3^- [25].

В этой связи большое количество работ посвящено изучению влияния свободных радикалов, генерируемых ХП, на аминокислоты, белки, липиды, углеводы, а также клеточные мембраны и органеллы, что позволяет сформулировать несколько ключевых закономерностей реализации эффектов ХП в живых системах: 1) вклад реактивных форм кислорода и реактивных форм азота в окислительную модификацию биологических молекул может существенно отличаться, в зависимости от условий формирования разряда его типа и мощности, от того, в какой фазе образуются активные соединения (газовая фаза или раствор); 2) спектр индуцируемых ХП модификаций органических биомолекул очень широк, например, в аминокислотах ХП вызывает гидроксилирование и нитрирование ароматических групп, сульфонирование и образование дисульфидных связей, что приводит к преимущественной деградации ароматических и S-содержащих аминокислот в белках, обработанных ХП; 3) влияние активных форм кислорода и азота, генерируемых ХП, на структурные изменения в биомакромолекулах существенно отличаются, например, в отношении гемопротеидов наиболее актуальны эффекты активных форм кислорода и азота, тогда как образование азотной кислоты обеспечивает существенное снижение pH и тем самым косвенно облегчают реализацию эффектов активных форм кислорода и азота; 4) биологические эффекты ХП могут существенным образом изменяться в присутствии металлов с переменной валентностью, в частности, железа, что актуализирует роль свободного железа в тканях (высвобождающегося во внеклеточное пространство при разрушении клеток и усиленной деградации гемопротеидов) при действии ХП; 5) требуется различать «изолированные» эффекты каждой из активных форм кислорода и азота, генерируемых при действии ХП, в отношении какого-либо одного класса биомакромолекул, так как суммарным результатом их действия является нарушение конформации белков, индукция перекисного окисления липидов, полимеризация углеводов и окислительное повреждение нуклеиновых кислот; выяснение указанных различий необходимо для того, чтобы знать, какие сигнальные пути будет затрагивать ХП или какой компонент ХП вносит больший вклад в модификацию структуры той или иной биомолекулы; 6) не менее сложной проблемой является оценка вклада различных продуктов ХП в биологический ответ, например, считается, что противоопухолевая активность в большей степени определяется перекисью водорода, но не NO_2^-, тогда как бактерицидная активность связана преимущественно с $ONOO^-$, а не озоном; 7) ответ клеток на действие ХП определяется сохранностью функции митохондрий: клетки с митохондриальной дисфункцией более чувствительны к эффектам свободных радикалов, образующихся в ткани при действии ХП; 8) при действии свободных радикалов, генерируемых во внеклеточной среде, клетки начинают продуцировать эндогенные активные формы кислорода и азота, что, вероятнее всего, определяет эффект ХП на клетки [5, 6, 10, 11, 13, 26–28].

Помимо изучения эффектов свободных радикалов, не остывает интерес и к перекиси водорода в контексте ее влияния как на отдельные биомакромолекулы, так и на внутриклеточные сигнальные пути [29]. Например, известно, что концентрация перекиси водорода, необходимая для того, чтобы вызвать апоптотическую

гибель клеток млекопитающих, может варьировать в 20-кратном диапазоне в зависимости от типа клеток, при низких сублетальных концентрациях перекиси водорода p53-зависимые механизмы активируют антиоксидантные гены, но когда уровни перекиси водорода значимо повышаются, то запускается экспрессия генов, кодирующих белки с прооксидантной активностью [30]. Однако насколько эти процессы задействованы в реализации эффектов ХП, остается до сих пор не выясненным.

Недостаточно изученными остаются и вопросы доставки генерируемых ХП активных форм кислорода и азота в клетки: возможности генерации широкого спектра активных молекул в газовой или водной фазе могут быть не востребованными в живых системах, если транспортные системы клеток не смогут обеспечить их эффективный захват, либо если формируемые за счет действия этих радикалов поры в мембранах клеток будут становиться триггерами массивного повреждения мембран и развития цитолиза. Для решения такого рода задач создаются новые модели, имитирующие взаимодействие клеток в ткани (например, фосфолипидные везикулы, нагруженные флуоресцентными сенсорами свободных радикалов и интегрированные в желатиновый матрикс, либо находящиеся в водной фазе), применение которых позволило установить, что доставка активных форм кислорода и азота осуществляется внутрь фосфолипидных везикул без потери целостности мембран [31] либо с очевидным «цитолитическим» эффектом, что определялось направлением действия плазмы [32]. Кроме таких модельных систем, доставка активных форм кислорода в биологические ткани (через кожу) была продемонстрирована на экспериментальных животных in vivo [33].

Рационален вопрос: существуют ли в клетках механизмы, позволяющие доставлять активные формы кислорода и азота из внеклеточного пространства в цитозоль без повреждения цитоплазматической мембраны, а также между компартментами клеток? Так, установлено, что хлорные каналы ClC-3 ответственны за транспорт (внутрь клетки и через некоторые внутриклеточные мембраны) супероксидного радикала ($O_2^{-\bullet}$), в частности, в клетках эндотелия и эпителия, что обеспечивает в этих клетках митохондриальную генерацию свободных радикалов и индукцию апоптоза [34–36]. Известно, что потенциал-управляемые хлорные каналы ClC-3, 4, 5 функционируют в цитоплазматических и некоторых внутриклеточных мембранах, обеспечивая процессы деполяризации [37], а также участвуя в регуляции пролиферации и апоптоза [38]. Пероксинитрит ($ONOO^-$) диффундирует через клеточные мембраны через анионные каналы (HCO_3^-/Cl^- обменник) и путем пассивной диффузии в протонированной форме [39]. Аквапорины AQP8 могут обеспечивать транспорт перекиси водорода через биологические мембраны, тогда как пассивная диффузия для перекиси водорода практически не характерна либо проявляется при определенном характере экспрессии транспортных белков и/или изменения липидного состава мембран, например, в активно пролиферирующих клетках [40]. Другой представитель аквапоринов – AQP1 – также участвует в транспорте перекиси водорода внутрь клеток [41]. Гидропероксильный радикал ($HO_2^\bullet$) и гидроксильный радикал ($OH^\bullet$) могут достаточно глубоко проникать в липидный бислой мембраны, где они имеют незначительную латеральную мобильность и инициируют перекисное окисление липидов, причем $HO_2^\bullet$, выступающий как протонированная форма супероксиданиона радикала (но не более 0,2% в условиях физиологического pH), демонстрирует значительно большую проникающую способность в липидном бислое, чем сам $O_2^{-\bullet}$, и удерживается (как и гидроксильный радикал) в мембране дольше (десятки наносекунд) благодаря взаимодействию с карбонилэфирными группами [42]. Примечательно, что собственно перекисное окисление липидов не рассматривается в качестве важного механизма транспорта в клетку активных форм кислорода, генерируемых ХП, тогда как, например, аминокислоты, присутствующие во внеклеточном пространстве и обладающие большим потенциалом к пероксидации (лейцин, изолейцин, пролин, валин), являются предикторами эффективности воздействия ХП на клетки [43]. Азот-содержащие продукты ХП (оксид азота, нитрит- и нитрат-анионы) способны проникать через мембрану клеток за счет активности ряда транспортных систем. В частности, NO транспортируется в клетки путем диффузии через мембрану [44] или посредством коннексинов (Cx37, Cx40, Cx43) [45]. Аквапорин AQP1 является транспортером для NO и NO_2 [41], а NO_3^- переносится внутрь клетки NO_3^-/H^+-котранспортером вместе с протоном водорода, результатом чего является ацидификация ци-

Рисунок 1.

Проникновение в клетки и реализация внутриклеточных эффектов активных форм кислорода и азота, перекиси водорода, оксидов азота и анионов, генерируемых холодной плазмой.

Figure 1.

Intracellular transport and modes of action of reactive oxygen and nitrogen species, hydrogen peroxide, nitrogen oxides and anions generated by non-thermal plasma.

Активные формы кислорода и азота, перекись водорода, оксиды азота и анионы, образующиеся при действии холодной плазмы на клетки, проникают в клетки через ионные каналы, за счет активности транспортеров, коннексины, аквапорины и путем диффузии через липидный бислой (см. в тексте). Результатом действия этих молекул является окислительное повреждение липидов, белков и нуклеиновых кислот, увеличение концентрации кальция в цитозоле (преимущественно за счет его высвобождения из внутриклеточных кальциевых депо), нарушение работы митохондрий, гиперпродукция ими активных форм кислорода (ROS), дисфункция митохондриально-пероксисомального комплекса, активация внутриклеточных систем деградации поврежденных биомакромолекул (протеасомы, лизосомы), изменение экспрессии генов, кодирующих белков с антиоксидантной активностью и/или регулирующих ответ клетки на окислительный стресс. Эти события приводят либо к восстановлению клеточных структур, либо к индукции клеточной гибели (апоптоз, аутофагия), что определяется степенью повреждения и эффективностью процессов репарации.

Reactive oxygen and nitrogen species, hydrogen peroxide, nitrogen oxides and anions, which are abundantly formed in the microenvironment upon the action of non-thermal plasma, are transported into cells through the ion channels, connexins, aquaporins and by the diffusion through the lipid bilayer (see the text). Molecular consequences induced by the non-thermal plasma include oxidation of lipids, proteins and nucleic acids, an increase in the cytosolic calcium because of its release from intracellular stores, mitochondrial dysfunction, excessive production of reactive oxygen species, activation of proteasomes and lysosomes, and changes in the expression of genes encoding proteins with antioxidant activity and/or regulating the cellular response to oxidative stress. These events lead either to the restoration of cellular structures or to the induction of cell death (intrinsic apoptosis, autophagy) that is determined by the degree of damage and by the efficiency of the repair processes.

тозоля, хотя имеются и другие NO_3^- транспортирующие системы в клетках млекопитающих (например, NO_3^-/Cl^- и NO_2^-/Cl^- -обменник) [46]. Предполагают, что NO_2^- также вызывает закисление внутриклеточной среды, но, вероятнее всего, не самостоятельно, а за счет диффузии в клетку HNO_2 [47]. Однако насколько эти механизмы вовлечены в реализацию эффектов ХП на клетки, остается не выясненным.

В целом клетки млекопитающих экипированы транспортными системами, позволяющими им достаточно эффективно захватывать из внеклеточного пространства активные формы кислорода и азота, а также генерируют собственные (эндогенные) радикалы как результат первичной активации или альтерации (**рисунок 1**), хотя логично предположить, что экспрессия различных транспортных систем будет существенным образом отличаться в клетках на разных стадиях развития, с разным пролиферативным потенциалом, а также в условиях патологии. Это определяет важность экспериментальных исследований на разнообразных модельных клеточных системах для оценки того, насколько данная популяция клеток чувствительна к эффектам продуктов, генерируемых ХП.

Не менее актуальным является вопрос о том, каким образом воздействие на поверхностный слой клеток ткани обеспечивает очевидный

биологический эффект в ткани в целом, особенно с учетом того, что активные формы кислорода и азота являются критически короткоживущими молекулами и не способны проникать вглубь биологического объекта. Развитие вторичной альтерации здесь весьма вероятно, и она может быть обусловлена повреждением поверхностного слоя клеток потоком свободных радикалов, высвобождением из клеток аларминов (например, негистоновых белков хроматина класса HMGB1 (high mobility group box 1 proteins), молекул РНК, поврежденных внутриклеточных белков, которые инициируют события, связанные с активацией инфламмасом, индукцией апоптоза, аутофагии, развитием иммунного ответа [48,49]. Другим вариантом распространения эффектов может быть активность межклеточных каналов, сформированных белками-коннексинами, которые обеспечивают формирование т.н. щелевых контактов и перенос между клетками низкомолекулярных соединений (например, НАД$^+$, АТФ, лактата) и ионов (например, Ca^{2+}), а также «полуканалов» (hemichannels), сформированных из коннексинов и обеспечивающих выход этих же соединений во внеклеточное пространство [50, 51]. Так, результаты математического моделирования показали, что при действии ХП на клетки гидроксильные (в том числе образующиеся в реакции Фентона из перекиси водорода) и гидропероксильные радикалы, а также пероксинитрит могут взаимодействовать с внеклеточными доменами коннексинов, что сопровождается индукцией внутриклеточного окислительного стресса в результате дисфункции митохондрий и, вероятно, переносом активных форм кислорода и азота в соседние клетки за счет активности каналов-коннексонов [52]. С другой стороны, направленная модуляция активности щелевых контактов способствует более выраженному цитотоксическому эффекту ХП, регистрируемому по индукции клеточной гибели и изменению инвазивности в клетках меланомы, что связывают с распространением между клетками молекул, способствующих инициации и развитию апоптоза [53]. Не менее актуальным может быть участие окислительно модифицированных белков – компонентов тесных и адгезионных контактов между клетками эпителия и эндотелия (окклудины, клаудины, ZO1, JAM и др.) в реализации эффектов ХП, приводящих к распространению биологического ответа в ткани [54]. Подобного рода исследования позволили сформулировать предположение о том, что ХП может быть хорошим инструментом для направленной и контролируемой доставки в клетки-мишени активных форм кислорода и азота, кроме того, обсуждаются возможности применения такого подхода для индукции клеточной гибели за счет активации иммунного ответа и контроля активности митохондрий [55-57].

В этом контексте возможным механизмом индукции «вторичной» продукции свободных радикалов в клетках, подвергнутых действию продуктов ХП, является генерация плазмой гидратированных (сольватированных) электронов (e^-_{sol}). Следует отметить, что их эффекты преимущественно описаны для действия продуктов радиолиза воды, и крайне ограничена информация о формировании сольватированных электронов в биологических тканях при действии ХП. Однако с учетом того, что экспериментально доказано образование e^-_{sol} при действии ХП на модельные растворы [2], а сами сольватированные электроны актуальны в контексте химической модификации белков и нуклеиновых кислот [58], вклад e^-_{sol} в реализацию эффектов ХП в живых клетках весьма вероятен и требует изучения. Именно поэтому возможно применять в отношении биологических объектов не только обработку непосредственно газовым разрядом, но и растворами, предварительно обработанными ХП, в частности, фосфатным буфером, раствором Рингера, водой или питательной средой [56, 59, 60], причем фосфатный буфер признается в качестве более стабильного раствора, содержащего продукты ХП, по сравнению с питательной средой [28]. Вместе с тем даже небольшие изменения условий получения обработанных ХП растворов могут существенным образом сказаться на их свойствах: например, изменение расстояния между факелом и поверхностью жидкости всего с 10 до 15 мм значительно меняет химический состав получаемого раствора (оцениваемый по соотношению перекиси водорода и NO_2^-: высокая мощность и малое расстояние способствуют образованию H_2O_2, но не NO_2^-, что, вероятно, связано с концентрацией паров воды в системе) и, соответственно, его цитотоксическую активность в отношении клеток опухоли [28]. Оценка эффектов ХП в таком случае должна производиться с учетом изменения pH раствора: показано, что в воде ХП снижает pH до 3,0, тогда как в фосфатном буфере – до 6,0 [61]. Основной вклад в ацидификацию раствора под действием ХП

вносят, по мнению разных авторов, гидропероксильный радикал, перекись водорода,-азотная и азотистая кислоты [28]. И хотя эффекты, вызываемые ХП, при устранении ацидификации раствора становятся менее выраженными (например, снижается амплитуда увеличения уровня Ca^{2+} в цитозоле), иные растворы с соответствующими значениями pH аналогичных биологических эффектов не вызывают, что объясняют необходимостью наличия кислой среды для обеспечения стабильности генерируемых плазмой активных продуктов. В частности, при снижении pH увеличивается образование NO из HNO_2, а также реализуются эффекты перекиси водорода в клетках [10,28,61,62].

Влияние ХП на метаболизм клеток

Влияние ХП на клеточный метаболизм весьма разнообразно. Так, снижение внутриклеточного уровня $НАД^+$ было зафиксировано при действии на клетки обработанной ХП бесклеточной питательной средой [63], что, с одной стороны, характерно для действия генотоксических агентов, вызывающих компенсаторную активацию поли(АДФ-рибозил)полимеразы и истощение $НАД^+$, с другой стороны, может свидетельствовать о нарушении синтеза или гликолитической регенерации $НАД^+$. Именно с нарушением последних двух процессов авторы [63] связали деплецию $НАД^+$ под действием продуктов ХП. Действительно, подавление гликолиза и снижение уровня внутриклеточного $НАД^+$ были зарегистрированы при действии ХП в различных клетках, что потенцировалось применением ингибиторов гликолиза [64,65].

Признанной внутриклеточной мишенью действия ХП являются митохондрии, в которых активируется продукция эндогенных активных форм кислорода и инициируются события, приводящие к развитию апоптоза [60,66]. Так, перекись водорода и свободные радикалы вызывают снижение митохондриального мембранного потенциала, высвобождение апоптоз-индуцирующего фактора в цитозоль, снижают экспрессию антиапоптотических белков в митохондриях [59,67]. Повреждение митохондрий может быть ответственно и за развитие пироптоза за счет механизмов, утилизирующих высвобождение цитохрома с, активацию каспазы-9 и каспазы-3 [68]. Кроме того, аккумуляция активных форм кислорода в митохондриях, вызванная действием бесклеточной питательной среды, обработанной ХП, предшествует развитию аутофагии и митофагии в клетках [59]. Таким образом, индуцируемое ХП нарушение работы митохондрий может инициировать все основные виды регулируемой клеточной гибели (апоптоз, аутофагия, пироптоз) (**рисунок 1**). Не менее важной составляющей суммарного эффекта ХП в отношении митохондрий является нарушение их энергетической функции, которое было продемонстрировано как экспериментально, так и в математических моделях. В частности, применение методов вычислительной биологии позволило установить, что ХП-индуцируемые активные формы кислорода, в том числе и перекись водорода, существенно нарушают внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс: меняется характер осцилляций концентрации внутриклеточных свободных радикалов, НАДН и $НАД^+$, причем степень нарушения редокс-баланса в клетках определяется интрамитохондриальной динамикой активных форм кислорода, тогда как ХП-индуцируемые активные формы азота приводят к снижению трансмембранного митохондриального потенциала, открытию митохондриальных мегаканалов, торможению дыхательной цепи [66].

Примечательно, что генерируемые в некоторых клетках-мишенях под действием ХП активные формы кислорода приводят к увеличению экспрессии рецептора активаторов пероксисомных пролифераторов (PPAR-α, PPAR-γ) [69], хотя такой эффект характерен не для всех клеток или режимов воздействия [70]. Известно, что лиганды PPARγ (например, PGC1α - PPARγ коактиватор 1α) стимулируют митохондриальный биогенез, координируют процессы, генерирующие энергию (гликолиз, окисление жирных кислот, окислительное фосфорилирование), регулируют ремоделирование пероксисом [71]. В этом контексте важно отметить, что пероксисомы, экспрессирующие каталазу, супероксиддисмутазу, глутатионтрансферазу, пероксиредоксин, ксантиноксидоредуктазу, а также низкомолекулярные антиоксиданты, выступают в качестве основных регуляторов и, отчасти, генераторов внутриклеточного метаболизма активных форм кислорода и азота, контролируют клеточную пролиферацию и рекрутинг стволовых клеток [72−74]. С другой стороны, известно, что пероксисомы тесно функционально и структурно интегрированы в клетках с митохондриями, преимущественно в участках контакта митохондрий с эндоплаз-

матическим ретикулумом [75,76]. Важно отметить, что рианодиновые рецепторы (RyR), экспрессируемые в эндоплазматическом ретикулуме и контролирующие (наряду с рецепторами инозитол-3-фосфата) высвобождение кальция в цитозоль, являются редокс-регулируемыми белками, чья активность возрастает при окислении и, вероятно, снижается при нитрозилировании [77]. Таким образом, логично предположить, что ключевой мишенью действия генерируемых ХП активных форм кислорода и азота, перекиси водорода является комплекс «митохондрия – пероксисома – эндоплазматический ретикулум», а выраженных эффектов действия ХП можно добиться в отношении процессов, утилизирующих взаимодействия в рамках такого комплекса (например, иммунный противовирусный ответ, внутриклеточный метаболизм жирных кислот, пролиферация клеток) и, соответственно, при патологии, ассоциированной с их нарушениями (**рисунок 1**).

Заключение

Изучение молекулярных механизмов действия ХП на биологические системы включает в себя не только анализ событий, связанных с генерацией и аккумуляцией активных форм кислорода, азота, нейтральных соединений, сольватированных электронов, но и идентификацию новых клеточных мишеней их действия, дерегуляция активности которых приводит к диссеминации процесса и формированию вторичного ответа ткани. Расшифровка этих механизмов обеспечит создание эффективных и безопасных протоколов применения ХП в биологии и медицине.

Литература / References:

1. Gopalakrishnan R, Kawamura E, Lichtenberg AJ, Lieberman MA, Graves D. Solvated electrons at the atmospheric pressure plasma-water anodic interface. *Journal of Physics D: Applied Physics.* 2016;49(29). https://doi.org/10.1088/0022-3727/49/29/295205
2. Rumbach P, Bartels DM, Sankaran RM, Go DB. The solvation of electrons by an atmospheric-pressure plasma. *Nature communications.* 2015;6(1):7248. https://doi.org/10.1038/ncomms8248
3. Farasat M, Arjmand S, Ranaei Siadat SO, Sefidbakht Y, Ghomi H. The effect of non-thermal atmospheric plasma on the production and activity of recombinant phytase enzyme. *Scientific Reports.* 2018;8(1):16647. https://doi.org/10.1038/s41598-018-34239-4
4. Attri P, Kumar N, Park JH, Yadav DK, Choi S, Uhm HS, Kim IT, Choi EH, Lee W. Influence of reactive species on the modification of biomolecules generated from the soft plasma. *Scientific Reports.* 2015;5(1):8221. https://doi.org/10.1038/srep08221
5. Pai K, Timmons C, Roehm KD, Ngo A, Narayanan SS, Ramachandran A, Jacob JD, Ma LM, Madihally SV. Investigation of the Roles of Plasma Species Generated by Surface Dielectric Barrier Discharge. *Scientific Reports.* 2018;8(1):16674. https://doi.org/10.1038/s41598-018-35166-0
6. Park JH, Kim M, Shiratani M, Cho AE, Choi EH, Attri P. Variation in structure of proteins by adjusting reactive oxygen and nitrogen species generated from dielectric barrier discharge jet. *Scientific Reports.* 2016;6(1):35883. https://doi.org/10.1038/srep35883
7. Yayci A, Baraibar ÁG, Krewing M, Fueyo EF, Hollmann F, Alcalde M, Kourist R, Bandow JE. Plasma-Driven in Situ Production of Hydrogen Peroxide for Biocatalysis. *Chem Sus Chem.* 2020;13(8):2072-2079. https://doi.org/10.1002/cssc.201903438
8. Rezaeinezhad A, Eslami P, Mirmiranpour H, Ghomi H. The effect of cold atmospheric plasma on diabetes-induced enzyme glycation, oxidative stress, and inflammation; in vitro and in vivo. *Scientific Reports*. 2019;9(1):19958. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56459-y
9. González-Mendoza B, López-Callejas R, Rodríguez-Méndez BG, Eguiluz RP, Mercado-Cabrera A, Valencia-Alvarado R, Betancourt-Ángeles M, Reyes-Frías MdL, Reboyo-Barrios D, Chávez-Aguilar E. Healing of wounds in lower extremities employing a non-thermal plasma. *Clinical Plasma Medicine*. 2019;16:100094. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cpme.2020.100094
10. Lukes P, Dolezalova E, Sisrova I, Clupek M. Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: evidence for the formation of peroxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of H2O2and HNO2. *Plasma Sources Science and Technolog*. 2014;23(1):015019. https://doi.org/10.1088/0963-0252/23/1/015019
11. Joshi SG, Cooper M, Yost A, Paff M, Ercan UK, Fridman G, Friedman G, Fridman A, Brooks AD. Nonthermal Dielectric-Barrier Discharge Plasma-Induced Inactivation Involves Oxidative DNA Damage and Membrane Lipid Peroxidation in Escherichia coli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2011;55(3):1053-1062. https://doi.org/10.1128/aac.01002-1
12. Guo L, Xu R, Gou L, Liu Z, Zhao Y, Liu D, Zhang L, Chen H, Kong MG. Mechanism of Virus Inactivation by Cold Atmospheric-Pressure Plasma and Plasma-Activated Water. *Applied and environmental microbiology*. 2018;84(17):e00726-18. https://doi.org/10.1128/aem.00726-18
13. Panngom K, Baik KY, Nam MK, Han JH, Rhim H, Choi EH. Preferential killing of human lung cancer cell lines with mitochondrial dysfunction by nonthermal dielectric barrier discharge plasma. *Cell Death & Disease*. 2013;4(5):e642-e642. https://doi.org/10.1038/cddis.2013.168
14. Kim J, Kim JH, Chang B, Choi EH, Park H-K. Hemorheological alterations of red blood cells induced by non-thermal dielectric barrier discharge plasma. *Applied Physics Letters.* 2016;109(19):193701. https://doi.org/10.1063/1.4967451
15. Arjunan KP, Friedman G, Fridman A, Clyne AM. Non-thermal dielectric barrier discharge plasma induces angiogenesis through reactive oxygen species. *Journal of The Royal Society Interface*. 2012;9(66):147-157. https://doi.org/doi:10.1098/

rsif.2011.0220
16. Zhang J-P, Guo L, Chen Q-L, Zhang K-Y, Wang T, An G-Z, Zhang X-F, Li H-P, Ding G-R. Effects and mechanisms of cold atmospheric plasma on skin wound healing of rats. *Contributions to Plasma Physics*. 2019;59(1):92-101. https://doi.org/10.1002/ctpp.201800025
17. Bourdens M, Jeanson Y, Taurand M, Juin N, Carrière A, Clément F, Casteilla L, Bulteau A-L, Planat-Bénard V. Short exposure to cold atmospheric plasma induces senescence in human skin fibroblasts and adipose mesenchymal stromal cells. *Scientific Reports*. 2019;9(1):8671-8671. https://doi.org/10.1038/s41598-019-45191-2
18. Braný D, Dvorská D, Halašová E, Škovierová H. Cold Atmospheric Plasma: A Powerful Tool for Modern Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(8):2932. https://doi.org/10.3390/ijms21082932
19. Milkovic L, Cipak Gasparovic A, Cindric M, Mouthuy P-A, Zarkovic N. Short Overview of ROS as Cell Function Regulators and Their Implications in Therapy Concepts. *Cells*. 2019;8(8):793. https://doi.org/10.3390/cells8080793
20. Valero T, Moschopoulou G, Mayor-Lopez L, Kintzios S. Moderate superoxide production is an early promoter of mitochondrial biogenesis in differentiating N2a neuroblastoma cells. *Neurochemistry International*. 2012;61(8):1333-1343. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.09.010
21. Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular cell*. 2012;48(2):158-167. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.025
22. Kiselyov K, Muallem S. ROS and intracellular ion channels. *Cell Calcium*. 2016;60(2):108-114. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2016.03.004
23. Eisenhauer P, Chernets N, Song Y, Dobrynin D, Pleshko N, Steinbeck MJ, Freeman TA. Chemical modification of extracellular matrix by cold atmospheric plasma-generated reactive species affects chondrogenesis and bone formation. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2016;10(9):772-782. https://doi.org/10.1002/term.2224
24. Mouthuy PA, Snelling SJB, Dakin SG, Milković L, Gašparović A, Carr AJ, Žarković N. Biocompatibility of implantable materials: An oxidative stress viewpoint. *Biomaterials*. 2016;109:55-68. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.09.010
25. Tero R, Yamashita R, Hashizume H, Suda Y, Takikawa H, Hori M, Ito M. Nanopore formation process in artificial cell membrane induced by plasma-generated reactive oxygen species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2016;605:26-33. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.05.014
26. Takai E, Kitamura T, Kuwabara J, Ikawa S, Yoshizawa S, Shiraki K, Kawasaki H, Arakawa R, Kitano K. Chemical modification of amino acids by atmospheric-pressure cold plasma in aqueous solution. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2014;47(28):285403. https://doi.org/10.1088/0022-3727/47/28/285403
27. Śmiłowicz D, Kogelheide F, Stapelmann K, Awakowicz P, Metzler-Nolte N. Study on Chemical Modifications of Glutathione by Cold Atmospheric Pressure Plasma (Cap) Operated in Air in the Presence of Fe(II) and Fe(III) Complexes. *Scientific Reports*. 2019;9(1):18024. https://doi.org/10.1038/s41598-019-53538-y
28. Van Boxem W, Van der Paal J, Gorbanev Y, Vanuytsel S, Smits E, Dewilde S, Bogaerts A. Anti-cancer capacity of plasma-treated PBS: effect of chemical composition on cancer cell cytotoxicity. *Sci Rep*. 2017;7(1):16478. https://doi.org/10.1038/s41598-017-16758-8
29. Teratani T, Tomita K, Toma-Fukai S, Nakamura Y, Itoh T, Shimizu H, Shiraishi Y, Sugihara N, Higashiyama M, Shimizu T, Inoue I, Takenaka Y, Hokari R, Adachi T, Shimizu T, Miura S, Kanai T. Redox-dependent PPARγ/Tnpo1 complex formation enhances PPARγ nuclear localization and signaling. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;156:45-56. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.06.005
30. Veal EA, Day AM, Morgan BA. Hydrogen peroxide sensing and signaling. *Molecular cell*. 2007;26(1):1-14. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.03.016
31. Hong S-H, Szili EJ, Jenkins ATA, Short RD. Ionized gas (plasma) delivery of reactive oxygen species (ROS) into artificial cells. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2014;47(36):362001. https://doi.org/10.1088/0022-3727/47/36/362001
32. Marshall SE, Jenkins ATA, Al-Bataineh SA, Short RD, Hong S-H, Thet NT, Oh J-S, Bradley JW, Szili EJ. Studying the cytolytic activity of gas plasma with self-signalling phospholipid vesicles dispersed within a gelatin matrix. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2013;46(18):185401. https://doi.org/10.1088/0022-3727/46/18/185401
33. Lu X, Keidar M, Laroussi M, Choi E, Szili EJ, Ostrikov K. Transcutaneous plasma stress: From soft-matter models to living tissues. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2019;138:36-59. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mser.2019.04.002
34. Hawkins BJ, Madesh M, Kirkpatrick CJ, Fisher AB. Superoxide flux in endothelial cells via the chloride channel-3 mediates intracellular signaling. *Mol Biol Cell*. 2007;18(6):2002-2012. https://doi.org/10.1091/mbc.e06-09-0830
35. Glassman PM, Myerson JW, Ferguson LT, Kiseleva RY, Shuvaev VV, Brenner JS, Muzykantov VR. Targeting drug delivery in the vascular system: Focus on endothelium. *Advanced drug delivery reviews*. 2020:S0169-409X(20)30059-4. https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.013
36. Mumbengegwi DR, Li Q, Li C, Bear CE, Engelhardt JF. Evidence for a superoxide permeability pathway in endosomal membranes. *Molecular and cellular biology*. 2008;28(11):3700-3712. https://doi.org/10.1128/mcb.02038-07
37. Qi Y, Mair N, Kummer KK, Leitner MG, Camprubí-Robles M, Langeslag M, Kress M. Identification of Chloride Channels CLCN3 and CLCN5 Mediating the Excitatory Cl(-) Currents Activated by Sphingosine-1-Phosphate in Sensory Neurons. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018;11:33-33. https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00033
38. Hong S, Bi M, Wang L, Kang Z, Ling L, Zhao C. CLC-3 channels in cancer (review). *Oncol Rep*. 2015;33(2):507-514. https://doi.org/10.3892/or.2014.3615
39. Denicola A, Souza JM, Radi R. Diffusion of peroxynitrite across erythrocyte membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(7):3566-3571. https://doi.org/10.1073/pnas.95.7.3566
40. Bienert GP, Schjoerring JK, Jahn TP. Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2006;1758(8):994-1003. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.02.015
41. Yusupov M, Razzokov J, Cordeiro RM, Bogaerts A. Transport of Reactive Oxygen and Nitrogen Species across Aquaporin: A Molecular Level Picture. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019: 2930504. https://doi.org/10.1155/2019/2930504
42. Cordeiro RM. Reactive oxygen species at phospholipid bilayers: Distribution, mobility and permeation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2014;1838(1, Part B):438-444. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.

bbamem.2013.09.016
43. Kalghatgi S, Kelly CM, Cerchar E, Torabi B, Alekseev O, Fridman A, Friedman G, Azizkhan-Clifford J. Effects of non-thermal plasma on mammalian cells. *PLoS One*. 2011;6(1):e16270. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016270
44. Möller MN, Cuevasanta E, Orrico F, Lopez AC, Thomson L, Denicola A. Diffusion and Transport of Reactive Species Across Cell Membranes. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1127:3-19. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11488-6_1
45. Figueroa XF, Lillo MA, Gaete PS, Riquelme MA, Sáez JC. Diffusion of nitric oxide across cell membranes of the vascular wall requires specific connexin-based channels. *Neuropharmacology*. 2013;75:471-478. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.02.022
46. Chow CW, Kapus A, Romanek R, Grinstein S. NO3--induced pH changes in mammalian cells. Evidence for an NO3--H+ cotransporter. *The Journal of general physiology*. 1997;110(2):185-200. https://doi.org/10.1085/jgp.110.2.185
47. Zhao H, Xu X, Ujiie K, Star RA, Muallem S. Transport and interaction of nitrogen oxides and NO2 with CO2-HCO3-transporters in pancreatic acini. *Am J Physiol*. 1994;267(2 Pt 1):C385-393. https://doi.org/10.1152/ajpcell.1994.267.2.C385
48. Peeters PM, Wouters EF, Reynaert NL. Immune Homeostasis in Epithelial Cells: Evidence and Role of Inflammasome Signaling Reviewed. *Journal of immunology research*. 2015;2015:828264-828264. https://doi.org/10.1155/2015/828264
49. Salvador B, Arranz A, Francisco S, Córdoba L, Punzón C, Llamas M, Fresno M. Modulation of endothelial function by Toll like receptors. *Pharmacol Res*. 2016;108:46-56. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.03.038
50. Salmina AB, Morgun AV, Kuvacheva NV, Lopatina OL, Komleva YK, Malinovskaya NA, Pozhilenkova EA. Establishment of neurogenic microenvironment in the neurovascular unit: the connexin 43 story. *Rev Neurosci*. 2014;25(1):97-111. https://doi.org/10.1515/revneuro-2013-0044
51. Hoorelbeke D, Decrock E, De Smet M, De Bock M, Descamps B, Van Haver V, Delvaeye T, Krysko DV, Vanhove C, Bultynck G, Leybaert L. Cx43 channels and signaling via IP(3)/Ca(2+), ATP, and ROS/NO propagate radiation-induced DNA damage to non-irradiated brain microvascular endothelial cells. *Cell Death Dis*. 2020;11(3):194. https://doi.org/10.1038/s41419-020-2392-5
52. Xu R-G, Chen Z, Keidar M, Leng Y. The impact of radicals in cold atmospheric plasma on the structural modification of gap junction: a reactive molecular dynamics study. *International Journal of Smart and Nano Materials*. 2019;10(2):44-155. https://doi.org/10.1080/19475411.2018.1541936
53. Zucker SN, Higley C, Koch Z, Goli H, Casey P, Francis A, Burke K, Zirnheld J. Abstract B18: Non-thermal plasma, tirapazamine, and gap junctions: A novel approach to melanoma therapy through ROS induction. *Cancer Research*. 2015;75(14 Suppl):B18-B18. https://doi.org/10.1158/1538-7445.mel2014-b18
54. Privat-Maldonado A, Bengtson C, Razzokov J, Smits E, Bogaerts A. Modifying the Tumour Microenvironment: Challenges and Future Perspectives for Anticancer Plasma Treatments. *Cancers (Basel)*. 2019;11(12):1920. https://doi.org/10.3390/cancers11121920
55. Lin A, Gorbanev Y, De Backer J, Van Loenhout J, Van Boxem W, Lemière F, Cos P, Dewilde S, Smits E, Bogaerts A. Non-Thermal Plasma as a Unique Delivery System of Short-Lived Reactive Oxygen and Nitrogen Species for Immunogenic Cell Death in Melanoma Cells. *Advanced Science*. 2019;6(6):1802062. https://doi.org/10.1002/advs.201802062
56. Zhunussova A, Vitol EA, Polyak B, Tuleukhanov S, Brooks AD, Sensenig R, Friedman G, Orynbayeva Z. Mitochondria-Mediated Anticancer Effects of Non-Thermal Atmospheric Plasma. *PLoS One*. 2016;11(6):e0156818-e0156818. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156818
57. Li W, Yu KN, Ma J, Shen J, Cheng C, Zhou F, Cai Z, Han W. Non-thermal plasma induces mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway via ROS generation in HeLa cells. *Arch Biochem Biophys*. 2017;633:68-77. https://doi.org/10.1016/j.abb.2017.09.005
58. Abel B. Hydrated Interfacial Ions and Electrons. *Annual Review of Physical Chemistry*. 2013;64(1):533-552. https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-040412-110038
59. Zhen X, Sun H-N, Liu R, Choi HS, Lee D-S. Non-thermal Plasma-activated Medium Induces Apoptosis of Aspc1 Cells Through the ROS-dependent Autophagy Pathway. *In vivo (Athens, Greece)*. 2020;34(1):143-153. https://doi.org/10.21873/invivo.11755
60. Xu S, Wang Y, Que Y, Ma C, Cai S, Wang H, Yang X, Yang C, Cheng C, Zhao G, Hu Y. Cold atmospheric plasma activated Ringer's solution inhibits the proliferation of osteosarcoma cells through the mitochondrial apoptosis pathway. *Oncol Rep*. 2020;43(5):1683-1691. https://doi.org/10.3892/or.2020.7518
61. Schneider C, Gebhardt L, Arndt S, Karrer S, Zimmermann JL, Fischer MJM, Bosserhoff A-K. Acidification is an Essential Process of Cold Atmospheric Plasma and Promotes the Anti-Cancer Effect on Malignant Melanoma Cells. *Cancers*. 2019;11(5):671. https://doi.org/10.3390/cancers11050671
62. Oehmigen K, Hähnel M, Brandenburg R, Wilke C, Weltmann K-D, von Woedtke T. The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. *Plasma Processes and Polymers*. 2010;7(3-4):250-257. https://doi.org/10.1002/ppap.200900077
63. Nagaya M, Hara H, Kamiya T, Adachi T. Inhibition of NAMPT markedly enhances plasma-activated medium-induced cell death in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2019;676:108155. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108155
64. Kurake N, Ishikawa K, Tanaka H, Hashizume H, Nakamura K, Kajiyama H, Toyokuni S, Kikkawa F, Mizuno M, Hori M. Non-thermal plasma-activated medium modified metabolomic profiles in the glycolysis of U251SP glioblastoma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2019;662:83-92. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.12.001
65. Kaushik N, Lee SJ, Choi TG, Baik KY, Uhm HS, Kim CH, Kaushik NK, Choi EH. Non-thermal plasma with 2-deoxy-D-glucose synergistically induces cell death by targeting glycolysis in blood cancer cells. *Scientific Reports*. 2015;5(1):8726. https://doi.org/10.1038/srep08726
66. Murakami T. Numerical modelling of the effects of cold atmospheric plasma on mitochondrial redox homeostasis and energy metabolism. *Scientific Reports*. 2019;9(1):17138. https://doi.org/10.1038/s41598-019-53219-w
67. Adachi T, Tanaka H, Nonomura S, Hara H, Kondo S, Hori M. Plasma-activated medium induces A549 cell injury via a spiral apoptotic cascade involving the mitochondrial-nuclear network. *Free Radic Biol Med*. 2015;79:28-44. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.014
68. Yang X, Chen G, Yu KN, Yang M, Peng S, Ma J, Qin F, Cao W, Cui S, Nie L, Han W. Cold atmospheric plasma induces GSDME-dependent pyroptotic signaling pathway via ROS generation in tumor cells. *Cell Death Dis*. 2020;11(4):295. https://doi.org/10.1038/s41419-020-2459-3

69. Brun P, Pathak S, Castagliuolo I, Palù G, Zuin M, Cavazzana R, Martines E. Helium generated cold plasma finely regulates activation of human fibroblast-like primary cells. *PLoS One*. 2014;9(8):e104397-e104397. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104397
70. Park J, Lee H, Lee HJ, Kim GC, Kim S-S, Han S, Song K. Non-thermal atmospheric pressure plasma is an excellent tool to activate proliferation in various mesoderm-derived human adult stem cells. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019;134:374-384. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.032
71. Corona JC, Duchen MR. PPARγ as a therapeutic target to rescue mitochondrial function in neurological disease. *Free radical biology & medicine*. 2016;100:153-163. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.023
72. Asare A, Levorse J, Fuchs E. Coupling organelle inheritance with mitosis to balance growth and differentiation. *Science*. 2017;355(6324):eaah4701. https://doi.org/10.1126/science.aah4701
73. Fransen M, Nordgren M, Wang B, Apanasets O. Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease. Biochimica et Biophysica *Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2012;1822(9):363-1373. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.001
74. Schrader M, Costello J, Godinho LF, Islinger M. Peroxisome-mitochondria interplay and disease. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(4):681-702. https://doi.org/10.1007/s10545-015-9819-7
75. Fransen M, Lismont C, Walton P. The Peroxisome-Mitochondria Connection: How and Why? *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(6):1126. https://doi.org/10.3390/ijms18061126
76. Schumann U, Subramani S. Special delivery from mitochondria to peroxisomes. *Trends in cell biology*. 2008;18(6):253-256. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2008.04.002
77. Zima AV, Mazurek SR. Functional Impact of Ryanodine Receptor Oxidation on Intracellular Calcium Regulation in the Heart. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. 2016;171:39-62. https://doi.org/10.1007/112_2016_2

Сведения об авторах

***Оловянникова Раиса Яковлевна**, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации.*
***ORCID:** 0000-0002-7902-7876*

***Макаренко Татьяна Александровна**, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой оперативной гинекологии института последипломного образования ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи.*
***ORCID:** 0000-0002-2899-8103*

***Лычковская Елена Викторовна**, старший преподаватель кафедры биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** обсуждение материала, подготовка рисунка.*
***ORCID:** 0000-0002-4017-1125*

***Гудкова Елизавета Сергеевна**, лаборант лаборатории медицинской кибернетики и управления в здравоохранении ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** обсуждение материала, подготовка рисунка.*
***ORCID:** 0000-0002-7540-4144*

***Мурадян Гоар Аматуновна**, лаборант лаборатории медицинской кибернетики и управления в здравоохранении ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** обсуждение материала, подготовка рисунка.*
***ORCID:** 0000-0002-5656-4636*

Authors

***Dr. Raisa Ya. Olovyannikova**, PhD, Associate Professor, Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0002-7902-7876*

***Dr. Tatiana A. Makarenko**, MD, DSc, Head of the Department of Operative Gynecology, Institute of Postgraduate Education, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0002-2899-8103*

***Dr. Elena V. Lychkovskaya**, Senior Lecturer, Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** performed a literature search and analysis; prepared the figure.*
***ORCID:** 0000-0002-4017-1125*

***Ms. Elizaveta S. Gudkova**, Research Assistant, Laboratory of Medical Cybernetics Healthcare Management, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** performed a literature search and analysis; prepared the figure.*
***ORCID:** 0000-0002-7540-4144*

***Ms. Goar A. Muradyan**, Research Assistant, Laboratory of Medical Cybernetics and Healthcare Management, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** performed a literature search and analysis; prepared the figure.*
***ORCID:** 0000-0002-5656-4636*

***Prof. Nadezhda N. Medvedeva**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Human anatomy, Prof. V.F. Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0002-7757-6628*

***Медведева Надежда Николаевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии человека ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи.*
***ORCID:** 0000-0002-7757-6628*

***Чекишева Татьяна Николаевна**, ассистент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи.*
***ORCID:** 0000-0001-6905-980X*

***Бердников Сергей Иванович**, врач-эндоскопист ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (660037, г. Красноярск, Коломенская ул., 26).*
***Вклад в статью:** обсуждение материалов, подбор литературы.*
***ORCID:** 0000–0002–9196–589X*

***Семичев Евгений Васильевич**, доктор медицинских наук, врач-эндоскопист, руководитель научного отдела ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (660037, г. Красноярск, Коломенская ул., 26).*
***Вклад в статью:** обсуждение материалов, подбор литературы.*
***ORCID:** 0000-0003-2386-5798*

***Малиновская Наталия Александровна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, старший научный сотрудник научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи, техническое оформление.*
***ORCID:** 0000-0002-0033-3804*

***Салмина Алла Борисовна**, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель научно-исследовательского института молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации.*
***ORCID:** 0000-0003-4012-6348*

***Салмин Владимир Валерьевич**, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой медицинской и биологической физики ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, г. Красноярск, Партизана Железняка ул., 1).*
***Вклад в статью:** написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации.*
***ORCID:** 0000-0003-4441-9025*

***Dr. Tatiana N. Chekisheva**, Assistant Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0001-6905-980X*

***Dr. Sergey I. Berdnikov**, MD, Endoscopist, Federal Siberian Research Clinical Centre, Federal Medical Biological Agency (26, Kolomenskaya Street, Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation).*
***Contribution:** discussing the data, selection of papers.*
***ORCID:** 0000–0002–9196–589X*

***Dr.Evgeniy V. Semichev**, MD, DSc, endoscopist, Head of the Research Department, The Federal State-Financed Institution Federal Siberian Research Clinical Centre, Federal Medical Biological Agency (26, Kolomenskaya Street, Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation).*
***Contribution:** performed a literature search and analysis.*
***ORCID:** 0000-0003-2386-5798*

***Prof. Natalia A. Malinovskaya**, MD, DSc, Professor of the Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry; Senior Researcher, Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0002-0033-3804*

***Prof. Alla B. Salmina**, MD, DSc, Head of the Department of Biological, Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Head of the Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0003-4012-6348*

***Dr. Vladimir V. Salmin**, DSc, Head of the Department of Medical and Biological Physics, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).*
***Contribution:** wrote the manuscript.*
***ORCID:** 0000-0003-4441-9025*

Статья поступила: 23.09.2020г.
Принята в печать: 30.11.2020г.
Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 23.09.2020
Accepted: 30.11.2020
Creative Commons Attribution CC BY 4.0.