

ХАРАКТЕРИСТИКИ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЕННОЙ СТРУИ ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ СИНУСОИДАЛЬНЫМ И ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ИМПУЛЬСНЫМ НАПРЯЖЕНИЯМИ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ПРИЛОЖЕНИЙ

© 2023 г. И. В. Швейгерт^{a,*}, Д. Э. Закревский^{a,b,c}, Е. В. Милахина^{a,b,c}, П. П. Гугин^{a,b},
М. М. Бирюков^{a,d}, Е. А. Патракова^d, О. С. Троицкая^{a,d}, О. А. Коваль^{a,d}

^a Институт теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича СО РАН,
Новосибирск, Россия

^b Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Новосибирск, Россия

^c Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Россия

^d Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

ⁱ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: ivschweigert@gmail.com

Поступила в редакцию 03.11.2022 г.

После доработки 08.01.2023 г.

Принята к публикации 09.01.2023 г.

Низкотемпературные плазменные струи при атмосферном давлении, генерируемые синусоидальным и положительным импульсным напряжением, по-разному взаимодействуют с обрабатываемой поверхностью. В эксперименте и в численном моделировании сравниваются режимы работы струи гелиевой плазмы для этих типов рабочих напряжений. Ток разряда на обрабатываемой поверхности с течением времени, и нагрев поверхности изучены для различных параметров разряда, допустимых для противораковой терапии. Для повышения эффективности плазменной струи анализируется интенсивность спектра излучения. Нагрев поверхности контролируется для того, чтобы удовлетворить условиям безопасного плазменного воздействия на биологические объекты. Обсуждается влияние длительности импульса напряжения на интенсивность взаимодействия плазмы с поверхностью. Результаты воздействия на раковые клетки А549 и MCF-7 демонстрируют высокую эффективность холодной плазменной струи, генерируемой в оптимальных режимах.

Ключевые слова: холодная плазменная струя, импульсное напряжение, длина импульса, температура поверхности, оптимизация режимов

DOI: 10.31857/S0367292122601400, **EDN:** VEFPZI

1. ВВЕДЕНИЕ

Холодная плазменная струя, генерируемая плазменными источниками в потоке инертного газа в окружающем воздухе, в настоящее время активно используется как эффективный инструмент в различных медицинских приложениях. В зависимости от типа рабочего напряжения, его амплитуды и частоты возникают разнообразные режимы распространения стримеров, формирующих плазменную струю. Плазменные струи могут инициироваться синусоидальным или положительным импульсным напряжением, и способ возбуждения определяет характеристики холодной плазменной струи (ХПС). Холодная плазменная струя, как правило, формируется синусоидальным напряжением, но генерация плазменной струи положительным импульсным

напряжением имеет такие преимущества, как контроль теплового эффекта и возможность увеличения прикладываемого напряжения. Установлено, что при синусоидальном возбуждении ХПС значительно повышается температура в зоне контакта плазмы с поверхностью при увеличении прикладываемого напряжения (см., например, [1, 2]). Температура поверхности в [1] повышалась до 35.2°C при амплитуде напряжения 2.5 кВ и до 39.8°C при 3 кВ при синусоидальном напряжении с частотой 25 кГц и скорости потока гелия 4 л/мин. При этом измеренная интенсивность излучения активных частиц оставалась слабой. В работе [2] при большем расходе гелия (5 л/мин), при амплитуде синусоидального напряжения 3 кВ и частоте 25 кГц, температура кожи мыши увеличилась до 96°C. Очевидно, что с использованием синусоидального напряжения

для возбуждения ХПС мониторинг температуры следует проводить параллельно с воздействием плазмы на биоткани.

Оригинальный способ снижения термического эффекта, вызванного воздействием ХПС при возбуждении синусоидальным напряжением, был предложен в [3]. Новизна метода [3] заключается в том, что уменьшение температуры поверхности, подтвержденное измерениями, достигается обрезанием фронта синусоидального напряжения при достижении максимального значения. Таким образом, было установлено, что уменьшение времени контакта плазмы с поверхностью приводит к снижению температуры поверхности.

В данной работе мы используем идею, предложенную в [3], и исследуем влияние длительности импульсов прикладываемого напряжения на динамику распространения стримеров и нагрев обрабатываемой поверхности по сравнению с аналогичными исследованиями характеристик ХПС при возбуждении синусоидальным напряжением. Новым в наших режимах обработки раковых образований гелиевой плазменной струей является повышенное рабочее напряжение по сравнению со всеми известными нам плазменными устройствами, применяемыми в плазменной медицине. Увеличение напряженности электрического поля в головке стримера при взаимодействии с поверхностью увеличивает физическое воздействие на биоткань.

Ранее интересные результаты о влиянии длительности импульса напряжения на взаимодействие плазмы с поверхностью были представлены в работах [4, 5]. В работе [4] проведен анализ взаимодействия ХПС, инициируемой импульсным напряжением с частотой 5 кГц и длительностью импульса 230 и 960 нс, с диэлектрической поверхностью под плавающим потенциалом. Анализ проводился с использованием измерений распределения электрического поля и спектра излучения. Авторы пришли к выводу, что длительность импульса и амплитуда прикладываемого напряжения определяют поверхностный заряд, электрический потенциал и, следовательно, время и интенсивность контакта плазмы с поверхностью. Аналогичные выводы о влиянии длительности импульса были сделаны в [5] для случая с поверхностью под плавающим потенциалом при приложении более длинных импульсов напряжения (1 и 10 мкс). Таким образом, длительность импульса напряжения является одним из основных параметров, определяющих время и интенсивность взаимодействия ХПС с поверхностью при импульсном типе возбуждения плазменной струи.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ УСТАНОВКА, РАССЧЕТНАЯ МОДЕЛЬ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕАКЦИИ КЛЕТОК

Эксперимент

В эксперименте для генерации плазменной струи в потоке гелия в окружающем воздухе при синусоидальном и положительном импульсном напряжениях использовалось плазменное устройство с цилиндрической конструкцией [6, 7]. Потенциальный электрод соосно вставлен в диэлектрический канал с внутренним диаметром 8 мм. Капилляр имеет диаметр 2.3 мм. Кольцевой заземленный электрод размещается снаружи над соплом. Источник плазмы показан на рис. 1а. Диэлектрическая пластина из Al_2O_3 или раковые клетки в среде помещаются на заземленную металлическую подложку на расстоянии 2.5 см от сопла. В наших экспериментах амплитуда напряжения U составляет от 3 до 5 кВ, а частота $f = 13-50$ кГц. Для генерации плазменной струи используется газообразный гелий, расход газа варьируется от 3 до 12 л/мин (скорость потока газа >10 м/с). Как в эксперименте, так и в моделировании положительное импульсное напряжение увеличивается до максимального значения в течение 2.5 мкс, имеет плато и уменьшается в течение 2.5 мкс. Длительность импульса τ_p считается временем ненулевого напряжения.

Моделирование

В численном моделировании газового разряда и динамики стримеров для условий эксперимента использовалась двумерная гидродинамическая модель в цилиндрической постановке и собственный код 2DPlasmaNovH [8]. В данной работе используется упрощенная модель, в которой рассматривается только газообразный гелий без примеси азота и кислорода. Модель фотоионизации используется та же, что и в [8], основанная на предположениях, что: а) фотоны испускаются сразу после возбуждения атома и б) генерация электрон/ионных пар этими фотонами происходит в области вокруг головки стримера. В ходе эксперимента [8] было показано, что изображения стримера представляют собой светящиеся пятна радиусом примерно 0.2–0.25 см вокруг головки стримера. Отсюда следует, что характерное время испускания фотонов возбужденными атомами меньше характерного времени распространения стримера, а длина фотоионизации меньше 0.25 см. На рис. 1б показана расчетная область с примером распределения плотности ионов. Расчетная область имеет цилиндрическую симметрию с $R = 6$ см и $H = 7$ см. Как и в эксперименте, потенциальный электрод радиусом 0.1 см и длиной 0.7 см размещен соосно в диэлектрическом канале. Заземленное металлическое кольцо рас-

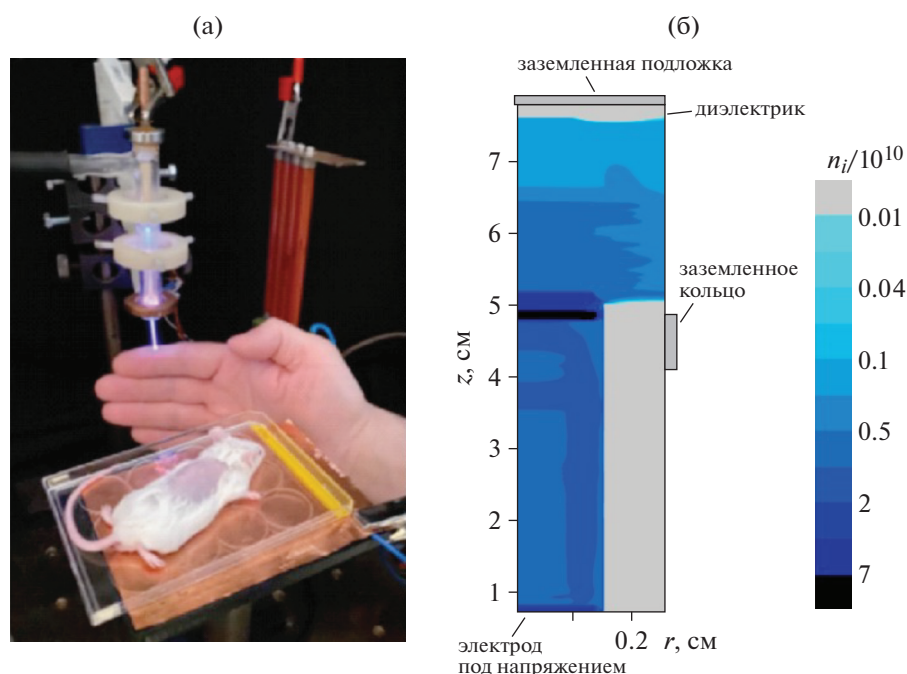


Рис. 1. Устройство низкотемпературной плазменной струи (а), расчетная область с распределением плотности ионов, когда стример распространяется в диэлектрическом канале устройства (б).

положено рядом с соплом. Диэлектрическая поверхность размещается на заземленной подложке на расстоянии 2.5 см от сопла. Для зажигания разряда в численном моделировании в начальный момент времени у поверхности нагруженного электрода внутри диэлектрического канала размещалось пятно плазмы с повышенной концентрацией, и скорость возрастания напряжения задавалась значительно больше экспериментальной. После распространения первого стримера напряжения $U(t)$ задавалось, как и в эксперименте. При моделировании было показано, что в течение нескольких первых циклов напряжения распространение стримера является более интенсивным, и система релаксирует в квазистационарное состояние после 10–15 рассчитанных циклов напряжения. Для анализа различных закономерностей распространения стримеров проводится моделирование для 10–100 циклов напряжения.

Для сквозного моделирования многоимпульсной динамики газоразрядной плазмы и распространения стримеров в численном расчете используется переменный шаг по времени, выбираемый на основе временного градиента и величины проводимости плазмы.

Материалы и методы исследования реакции клеток на воздействие ХПС

На растущие раковые клетки аденокарциномы легкого человека A549 воздействовали ХПС, ге-

нерируемой положительным импульсным напряжением с различной длительностью импульса и синусоидальным напряжением. Клетки обрабатывали в течение 1 мин, амплитуда импульсного напряжения составляла $U_0 = 4.2$ кВ, $f = 30$ кГц, а для синусоидального напряжения $U_0 = 3.5$ кВ и $f = 50$ кГц. Наши исследования показали, что эти параметры синусоидального напряжения были оптимальными для обработки клеток A549, а температура поверхности не превышала 39°C .

Клетки A549 помещались (3×10^3 клеток на лунку) в 96-луночные планшеты и выращивали в питательной среде (DMEM, Sigma-Aldrich), с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (GIBCO, Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США), 2 мМ L-глутамин, 250 мг/мл амфотерицин В и 100 ед/мл пенициллина/стрептомицина [9]. Когда клетки достигали 70–80% слияния, их подвергали обработке ХПС. Клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7 высевали по 5000/лунку, 100 мкл IMDM, 10% FBS, а/а, Glu.

Анализ МТТ (колориметрический анализ, 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид) использовали для оценки цитотоксичности и жизнеспособности клеток.

3. ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ХПС ПРИ СИНУСОИДАЛЬНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ

В работе [7] показано, что плазменная струя, инициируемая синусоидальным напряжением,

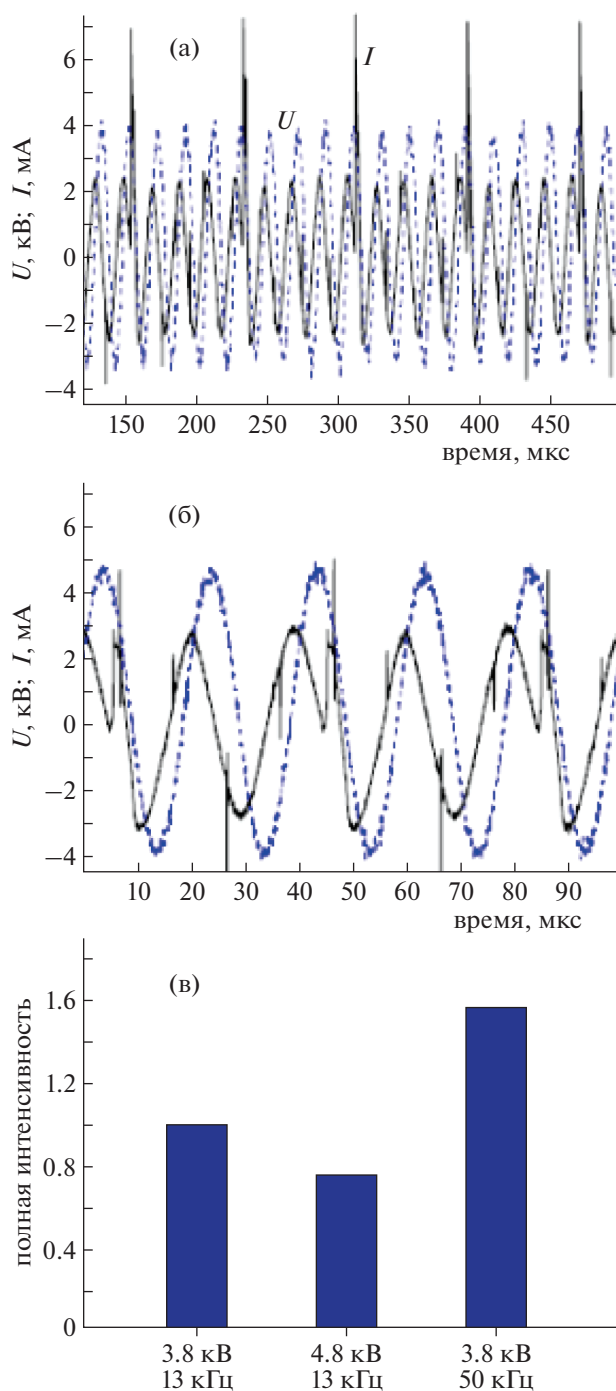


Рис. 2. Измеренное напряжение (синий) и ток разряда (черный) над диэлектрической поверхностью при $U_0 = 3.8$ (а) и 4.8 кВ (б), $f = 50$ кГц и рассчитанная полная ионизации вблизи поверхности для различных параметров разряда (в).

формируется стримерами разной длины. При малых амплитудах и частотах прикладываемого напряжения стримеры регулярно достигают поверхности, но интенсивность этих стримеров слабая. С увеличением U и f интенсивность взаимо-

действия плазменной струи с поверхностью возрастает нелинейно, т.к. только часть стримеров достигает поверхности.

В работе для определения наиболее эффективных режимов воздействия на раковые клетки с достаточно низким тепловым эффектом варьировалась частота и амплитуда переменного напряжения. Оценка интенсивности взаимодействия плазмы с поверхностью проводилась с помощью измерения а) тока разряда у поверхности и б) интегрирования ионизации по времени вблизи поверхности при численном моделировании. Исследование проводилось для режимов $U_0 < 4$ кВ и $f = 13-50$ кГц. Наиболее интенсивное взаимодействие плазма–поверхность при достаточно низкой температуре поверхности обнаружено для режимов с $f = 50$ кГц и $U_0 = 3.5-3.8$ кВ. При этом стримеры достигают поверхности в каждом четвертом цикле напряжения (рис. 2). Измеренный ток разряда у поверхности (рис. 2а) достигает 6.8 мА, что в 2–3 раза больше, чем при $f = 13$ и 22 кГц и $U_0 = 3.5-3.8$ кВ. Увеличение напряжения до 4.8 кВ при $f = 50$ кГц меняет шаблон распространения стримеров (каждый второй стример касается поверхности), и ток разряда у поверхности уменьшается (рис. 2в). В моделировании полная ионизация интегрировалась по времени в области 1 см от поверхности для различных параметров ХПС. Нормированная полная ионизация показана на рис. 2в. Видно, что максимальная интенсивность взаимодействия достигается при $f = 50$ кГц и $U_0 = 3.8$ кВ по сравнению с $f = 13$ кГц.

Результаты воздействия на раковые клетки ХПС при синусоидальном возбуждении

Найденный оптимальный режим ХПС, возбужденной синусоидальным напряжением, был протестирован в эксперименте с облучением раковых клеток. На рис. 3 показана жизнеспособность клеток аденокарциномы легких человека А549 и аденокарциномы молочной железы МСF-7, полученная с помощью МТТ анализа через 24 часа после обработки клеток ХПС. Воздействие длилось 1 и 2 мин. Результаты по жизнеспособности раковых клеток подтвердили, что наиболее эффективным режимом является режим с $f = 50$ кГц по сравнению с $f = 13$ кГц для обоих типов клеток.

4. ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ХПС ПРИ ИМПУЛЬСНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ

Импульсное напряжение и ток разряда в зоне контакта плазменной струи с поверхностью диэлектрика, представлены на рис. 4 для разных длин импульсов напряжения $\tau_p = 7$ и 15 мкс для $U_0 = 4.2$ кВ и $f = 30$ кГц. Видно, что при более

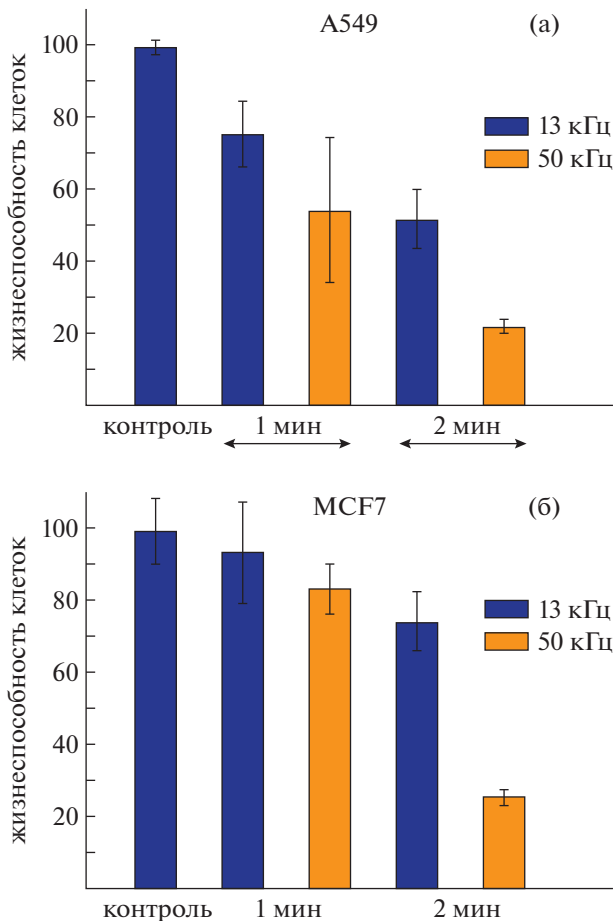


Рис. 3. Жизнеспособность раковых клеток после облучения A549, $U_0 = 3.5$ кВ (а) и MCF-7, $U_0 = 4$ кВ (б) для $f = 13$ и 50 кГц.

коротком импульсе стримеры касаются поверхности при каждом импульсе напряжения. При $\tau_p = 15$ мкс частота тока вблизи поверхности уменьшается в 2 раза. Такое поведение наблюдалось для всех случаев при $U_0 = 3.5-4.2$ кВ и $f = 25-30$ кГц.

Тот же эффект был обнаружен при моделировании (см. рис. 5). Рассчитанная z -координата головки стримера, связанная с максимальной скоростью ионизации, указывает на то, что стримеры касаются поверхности при каждом импульсе напряжения при $\tau_p = 7$ мкс и только при каждом втором импульсе при $\tau_p = 15$ мкс. Отметим, что скорость ионизации в головке стримера значительно ниже при $\tau_p = 15$ мкс. При моделировании для анализа интенсивности взаимодействия плазменной струи с поверхностью при различных τ_p проводилось интегрирование по времени скорости ионизации вблизи поверхности. Максимальная полная ионизация относится к длительности импульса 7 мкс для $f = 30$ кГц и $U_0 = 4.2$ кВ.

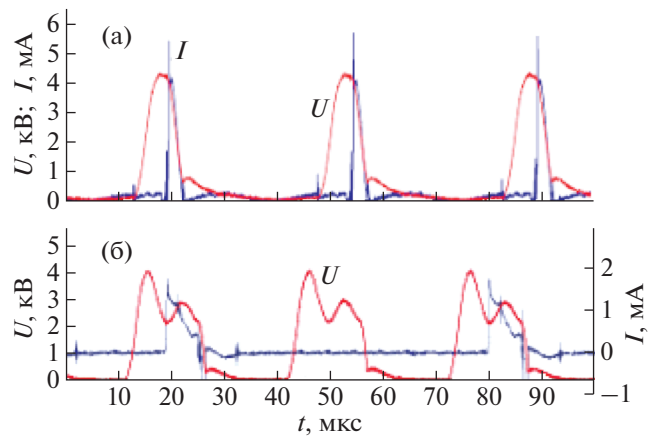


Рис. 4. Положительное импульсное напряжение и разрядный ток, измеренный вблизи поверхности для $U_0 = 4.2$ кВ, $f = 30$ кГц и длительностей импульса напряжения $\tau_p = 7$ (а) и 15 мкс (б).

5. СРАВНЕНИЕ НАГРЕВА И ЭФФЕКТИВНОСТИ ОБРАБОТКИ ХПС С СИНУСОИДАЛЬНЫМ И ИМПУЛЬСНЫМ ВОЗБУЖДЕНИЕМ

Преимуществом воздействия ХПС, генерируемой при положительном импульсном возбуждении, является существенное снижение нагрева поверхности, что позволяет увеличить рабочее напряжение и время обработки. На рис. 6 температура поверхности показана для синусоидального и импульсного напряжений в зависимости от амплитуды напряжения для различных скоростей гелия. Обратите внимание, что для синусоидального напряжения температура диэлектрической пластины повышается на 10°C с ростом U на каждые 0.5 кВ и становится больше критической при $U_0 > 3.5$ кВ. Для случая импульсного напряжения (рис. 6б) температура остается низкой для $U_0 < 5.4$ кВ при $f = 30$ кГц. Повышение температуры поверхности менее 10°C , что допустимо в экспериментах с животными. Отметим, что в обоих случаях температура поверхности быстро увеличивается в течение 60 с, а затем возрастает существенно медленнее.

Спектры излучения плазменной струи, измеренные вблизи планшета с питательной средой для культивирования раковых клеток, представлены на рис. 7 для синусоидального и импульсного напряжения с различными длительностями импульса. Интенсивность линии ОН при $\lambda = 309$ нм увеличивается в 3 раза при уменьшении длительности импульса с 15 до 7 мкс. Максимальная интенсивность линии ОН соответствует случаю синусоидального напряжения.

Клетки аденокарциномы легкого A549 обрабатывали в течение 1 или 2 мин плазменной струей,

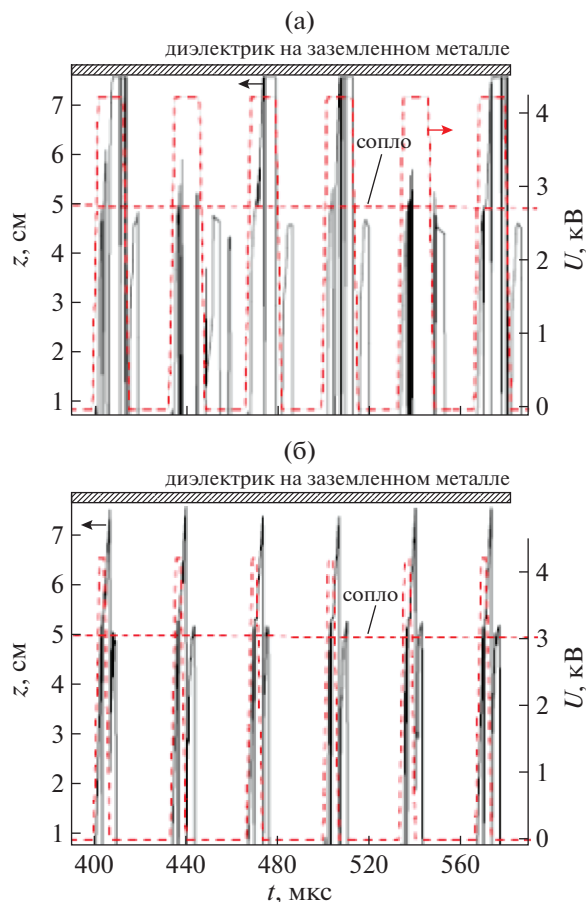


Рис. 5. Расчетная z -координата головки стримера и напряжение разряда в зависимости от времени для $U_0 = 4.2$ кВ, $f = 30$ кГц и длительности импульса напряжения $\tau_p = 7$ (а) и 15 мкс (б).

инициируемой синусоидальным и положительным импульсным напряжением с длительностью импульса $\tau_p = 7$ и 15 мкс. После облучения плазмой во всех экспериментах клетки выращивали в питательных средах. В случае ХПС с синусоидальным напряжением был выбран оптимальный режим генерации с $U_0 = 3.5$ кВ и $f = 50$ кГц, описанный выше. Результаты МТТ-теста сделанного через 24 часа после облучения показаны на рис. 8. Видно, что воздействие ХПС в течение 1 мин максимально при импульсном напряжении с $\tau_p = 7$ мкс, а для 2 мин воздействия ХПС минимальная жизнеспособность клеток соответствует случаю с синусоидальным напряжением. Для импульсного напряжения с $\tau_p = 15$ мкс плазменная обработка клеток A549 оказалась менее эффективной, и жизнеспособность остается более 86% даже при 2-минутной обработке ХПС. Таким образом, получено примерно сравнимое по эффекту воздействие для оптимального синусоидального режима и импульсного напряжения с

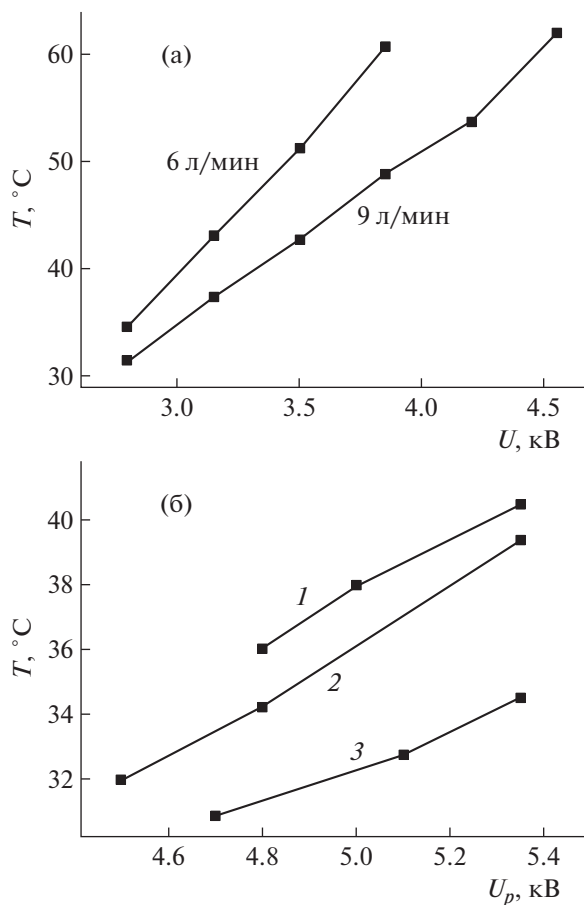


Рис. 6. Температура поверхности поверхности Al_2O_3 для синусоидального напряжения в зависимости от амплитуды напряжения при $f = 22$ кГц (а) и для импульсного напряжения с длительностью 7 мкс, $f = 30$ кГц для 1 – $v = 1.5$, 2 – 3, 3 – 6 л/мин (б).

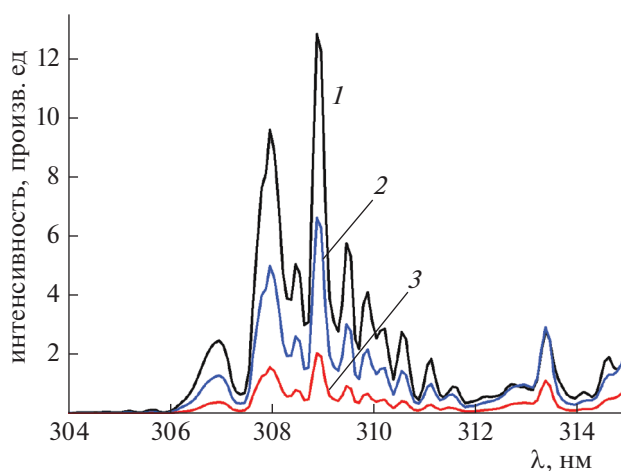


Рис. 7. Измеренная интенсивность спектров излучения вблизи поверхности для анализа ОН при синусоидальном напряжении ($U_0 = 3.5$ кВ, $f = 50$ кГц) и импульсном напряжении ($U_0 = 4.2$ кВ, $f = 30$ кГц, $\tau_p = 7$ и 15 мкс).

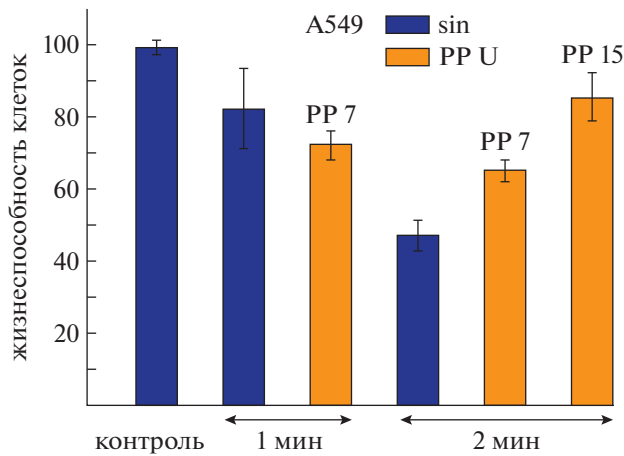


Рис. 8. Жизнеспособность клеток A549 через 24 часа после обработки ХПС в течение 1 и 2 мин, с синусоидальным напряжением ($U_0 = 3.5$ кВ и $f = 50$ кГц) и с импульсным напряжением ($U_0 = 4.2$ кВ, $f = 30$ кГц) с длительностью импульса напряжения $\tau_p = 7$ и 15 мкс; sin – синусоидальное напряжение, PP – импульсное напряжение.

$\tau_p = 7$ мкс, но при импульсном напряжении температура в зоне контакта остается значительно ниже.

6. ВЫВОДЫ

Проведено сравнение характеристик низкотемпературной плазменной струи, генерируемой синусоидальным и положительным импульсным напряжениями. В эксперименте и моделировании изучались шаблоны установившегося квазистационарного распространения стримеров в плазменной струе в зависимости от частоты и амплитуды прикладываемого напряжения. Были найдены оптимальные режимы ХПС для подавления жизнеспособности раковых клеток. ХПС с синусоидальным рабочим напряжением ($U = 3.5$ кВ, частота напряжения ~ 50 кГц, а частота тока у поверхности $\sim 50/4$ кГц) более эффективно подавляет жизнеспособность раковых клеток, но данный режим реализуется в узком диапазоне напряжений, и может перейти в режим с частотой тока равной частоте напряжения, что приводит к резкому увеличению тепловыделения в зоне контакта плазмы с поверхностью. ХПС с импульсным напряжением с длительностью импульсов 7 мкс также показала высокую эффективность при воздействии на раковые клетки. Установлено, что в ХПС с импульсным напряжением с $\tau_p = 7$ мкс стримеры распространяются регулярно при каждом цикле напряжения для частоты напряжения $f < 30$ кГц и амплитуды напряжения $U_0 < 4.5$ кВ, а нагрев зоны воздействия невелик. При увеличении длительности импульса напряжения до 20 мкс плазменная струя становится нестабильной и нагрев увеличивается.

В случае импульсного напряжения показано, что интенсивность взаимодействия плазма–поверхность имеет максимум для $\tau_p = 7$ мкс. Измеренная интенсивность линии OH на $\lambda = 309$ нм вблизи среды с клетками имеет максимум для этого случая. Ток разряда, измеряемый вблизи поверхности, имеет максимальное значение для $\tau_p = 7$ мкс и уменьшается с увеличением длительности импульса. Расчетная полная ионизация у поверхности также имеет максимальное значение для случая 7 мкс импульса напряжения ($U_0 = 4.2$ кВ и $f = 30$ кГц). Измерение температуры поверхности для рабочих режимов синусоидального и импульсного напряжения показало значительное снижение нагрева для случая импульсного напряжения.

Оптимальные режимы ХПС с синусоидальным и импульсным напряжением были протестированы на раковых клетках A549 и MCF-7 A549. Жизнеспособность раковых клеток была проанализирована с помощью МТТ-теста через 24 часа после воздействия плазменной струи. Результаты биоэксперимента подтверждают высокую эффективность предложенных оптимальных режимов.

Авторы выражают благодарность за финансовую поддержку Российскому научному фонду, грант № 19-19-00255-П. Участие в работе одного из соавторов Е. Патраковой, было поддержано грантом РФФИ для молодых ученых № 20-34-90021.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chatraie M., Torkaman G., Khani M., Salehi H., Shokri B. // Sci. Reps. 2018. V. 8. P. 5621.
2. Kos S., Blagus T., Cemazar M., Filipic G., Sersa G., Cvelbar U. // PLoS ONE. 2017. V. 12 (4). P. e0174966.
3. Гугин П., Закревский Д., Милахина Е. // Письма ЖТФ. 2021. Т. 47. С. 22.
4. Slikboer E., Viegas P., Bonaventura Z., Garcia-Caurel E., Sobota A., Bourdon A., Guaitella O. // Plasma Sources Sci. Technol. 2019. V. 28. P. 095016.
5. Viegas P., Hofmans M., van Rooij O., Obrusnk A., Klarenaar B.L.M., Bonaventura Z., Guaitella O., Sobota A., Bourdon A. // Plasma Sources Sci. Technol. 2020. V. 29. P. 095011.
6. Schweigert I.V., Zakrevsky Dm.E., Gugin P.P., Yelak E.V., Golubitskaya E.A., Troitskaya O.S., Koval O.A. // Appl. Sci. 2019. V. 9. P. 4528.
7. Schweigert I.V., Alexandrov A.L., Zakrevsky Dm.E. // Plasma Sources Sci. Technol. 2020. V. 29. P. 12LT02.
8. Schweigert I., Vagapov S., Lin L., Keidar M. // J. Phys D Appl. Phys. 2019. V. 52 (29). P. 295201.
9. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A., Troitskaya O., Sivolobova G., Grazhdantseva A., Nushtaeva A., Kuligina E., Richter V. // BioMed. Res. Int. 2017. V. 2017. P. 1.