

Активные частицы холодной плазмы: применение в раковой терапии

David B. Graves, Университет Беркли

Холодная атмосферная плазма (CAP – Cold Atmospheric Plasma) формируется генерирует активные формы кислорода и азота (сокращенно RONS – Reactive Oxygen and Nitrogen Species). RONS – это биологически и терапевтически активные агенты. Результаты проведенных экспериментов предполагают, что плазма сокращает размер опухоли за счет усиления окислительного и нитрозативного стресса в опухолевых тканях. Большинство основных противораковых видов лечения, в том числе ионизирующее облучение и химиотерапия, также действуют на основании механизма прооксидантного, оксидативного и нитрозативного стресса. Главный недостаток такого традиционного лечения заключается в развитии клеток, резистентных к лечению. Что касается применения плазмы для лечения рака, то ключевым вопросом остается развитие резистентности к окислительному стрессу. Однако есть предпосылки, что объединение нитрозативного и окислительного стресса через действие воздушной плазмы может помочь избежать этой проблемы. Лечение рака, основанное на действии плазмы, может быть очень эффективным и практичным. Это может быть как самостоятельное лечение, так и вспомогательная терапия.

1. Введение

Основные виды раковой терапии на данный момент направлены на уничтожение рака или на ограничение его негативных последствий для организма. К такой терапии относится радиотерапия и химиотерапия. В последнее время фармацевтические компании уделять большое внимание терапии, направленной на гены. Такое лечение направлено на специфические онкогены или гены, подавляющие опухоль (и соответствующие биохимические пути). Иммунотерапия рака и трансплантация стволовых клеток также становятся предметом обсуждений. Локальная «очаговая терапия», которая в последнее время привлекает к себе много внимания, включает в себя лазерную абляцию, тепловую плазменную коагуляцию, гипертермию, фокусированный ультразвук и фотодинамическую терапию. Тем не менее, по-прежнему стоит острая необходимость в улучшенной раковой терапии с минимальными побочными эффектами; терапия, которая эффективно бы боролась с самыми разными проявлениями рака. Задача данной статьи — изучить возможные механизмы и потенциал холодной атмосферной плазмы (CAP), как новой антираковой терапии.

В последнем обзоре автор Schlegel и другие кратко описали прогресс применения CAP для удаления опухолей в ходе *in vitro*, а также *in vivo* исследований. Авторы указывают на разные конфигурации CAP, в том числе воздействие инертного газа и диэлектрического барьерного разряда. Эту новую область изучения они назвали «плазменной онкологией». Авторы считают, что относительно низкие «дозы» плазмы индуцируют остановку клеточного цикла, а более высокие дозы приводят к апоптозу. Наконец, очень высокие дозы плазмы вызывают некроз. Более того, отмечается схожесть противоопухолевого действия у всех изучаемых видов рака: карцинома, рак кожи и опухоли мозга. В некоторых случаях, обработка среды для культивирования клеток плазмой, оказалась эффективной против опухолей, как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*.

По всей видимости, на клеточный эффект CAP прямо и косвенно влияют активные формы кислорода и азота (RONS), которые образуются в струе плазмы. В данной статье, мы поддерживаем точку зрения, что RONS и клеточные реакции играют ключевую роль для понимания, контролирования и применения плазменной онкологии.

Важнейшая роль окислительно-восстановительных реакций в развитии рака, его прогрессировании и лечении уже устоявшееся мнение в отраслевой литературе. В этой статье мы не предпринимая попыток предоставить полный обзор этой обширной темы,

особенно проблемы увеличения окислительного стресса для лечения рака. Этот вопрос и его отношение к плазменной онкологии будет рассматриваться ниже, в соответствующих разделах этой статьи. Renschler предлагает интересную историческую перспективу, предполагая, что идея использования RONS-генерирующих препаратов для лечения рака, преимущественно в лучевой терапии (сенсбилизация опухоли), упоминается еще в начале 1960-х. Авторы Trachootham и другие дают особенно подробное описание этой идеи, приводят большое количество цитат. Последние работы, поддерживающие и разрабатывающие эту идею, далее принадлежат авторам Mak и его коллегам, и автору Watson.

Главная цель данной статьи — попытка установить связь между плазменной онкологией и различными терапевтическими подходами, которые также основаны на действии окислительного и нитрозативного стресса. Несомненно, важно в целом изучать способ появления RONS и их доставки в клетки. Ионизирующее облучение проникает в клетки, поэтому RONS образуются прямо внутри этих клеток. Химиотерапевтические препараты (или их продукты метаболизма) также генерируют RONS в клетках посредством целой серии биохимических реакций в клетках и отделах клеток, таких как митохондрии. То, как именно образуются RONS в клетках и влияют на их биохимию, по-прежнему остается загадкой. Очевидно, что развитие плазменной онкологии потребует более подробного изучения этого вопроса.

Традиционные противораковые терапии часто дают хороший эффект в самом начале, приводя к быстрому уменьшению размера опухоли или опухолей. Однако, нередко этот эффект сохраняется лишь на короткое время. Главная проблема традиционных видов лечения — это развитие клеток, резистентных к лечению, что приводит к повторному росту опухоли, росту метастаз и, во многих случаях, к летальному исходу. Адаптация опухоли к терапии, индуцирующей окислительный стресс, например, радиотерапия и многие виды химиотерапии, обычно считают главной причиной резистентности. Тот факт, что плазменная онкология тоже работает на основе окислительного стресса, дает повод полагать, что при лечении плазмой могут возникнуть аналогичные проблемы. Однако уже есть предпосылки, что RONS, появившиеся под действием плазмы, могут предотвратить резистентность.

2. Базовая модель взаимодействия плазма-ткань

Прежде чем приступить к обсуждению аспектов действия RONS в антираковой терапии, я бы хотел сначала обратиться к вопросу, что происходит, когда CAP применяется для лечения опухоли. Существующая модель пока еще недостаточно ясна, но ее главная суть наглядно проиллюстрирована на Рисунке 1.

Необходимо подчеркнуть, что CAP — это пока прямая обработка поверхности опухоли, в отличие, например, от проникающего ионизирующего облучения. Возникает один очевидный вопрос: как поверхностная обработка может воздействовать на глубокие ткани? Частично, ответ на этот вопрос дан на Рисунке 1. Да, это действительно возможно. Зафиксированы доказательства *in vitro* и *in vivo* исследований, что присутствие RONS и их продуктов индуцирует окислительный и нитрозативный стресс в тканях, приводя к апоптозу или некрозу, в зависимости от дозы. Роль RONS в плазменной онкологии частично освещена в работе Schlegel и его коллег, где говорится о флуоресцентном выявлении RONS в клетках, а также демонстрируется снижение эффекта CAP при присутствии RONS-акцепторов. Конечно, строго говоря, это доказательство можно назвать случайным, и межклеточные RONS могут образовываться, по крайней мере, частично внутри клетки. Документально подтверждено, что RONS могут генерироваться внутри клеток, как реакция на многие формы стресса, а также образовываться в результате внешнего воздействия.

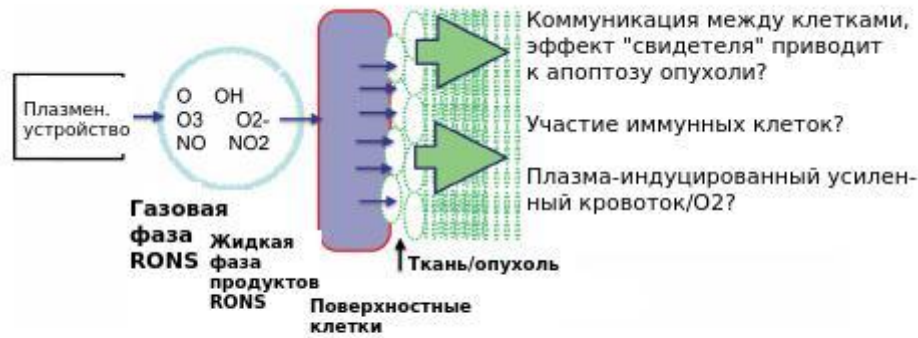


Рисунок 1. Устройство передачи плазмы генерирует RONS, которые либо попадают на поверхность клетки, либо непосредственно в клетки. Независимо от эффекта сольватированных форм RONS и их продуктов на поверхностном слое клеток, необходима коммуникация между клетками, чтобы воздействие достигло более глубоких слоев ткани. К некоторым вариантам можно отнести механизм, аналогичный эффекту «свидетеля», вызванному радиацией; стимуляция, вовлечение иммунной системы или, вероятно, эффекты, связанные с усилением локального кровотока и повышением концентрации O_2 .

В последней замечательной работе автора Lukes и его коллег частично описываются некоторые химические процессы, происходящие в воде, подверженной воздействию воздушной плазмы. Рисунок 2 был взят из этой книги и он кратко демонстрирует результаты проведенного эксперимента.

Эти результаты очень важны для понимания ключевых биохимических процессов, имеющих отношение к известным или предполагаемым терапевтическим эффектам. Более подробно о взаимодействии воздушная плазма-вода (иногда, применяется термин «плазма-активированная вода» или PAW) рассказывается в предпоследнем разделе этой статьи.

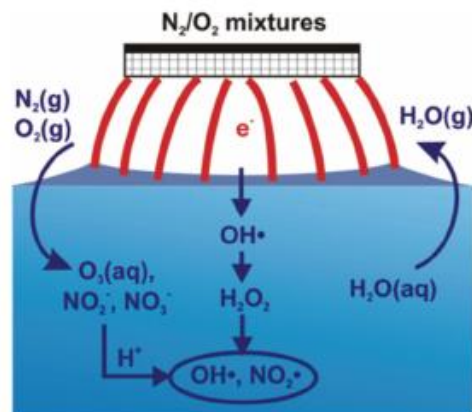


Рисунок 2. Согласно Lukes и его коллегам, воздушная плазма создает различные RONS, которые в воде превращаются в растворенный O_3 (озон); NO_2 (нитрит); NO_3 (нитрат), H^+ (кислота), OH (гидроксил); H_2O_2 (перекись водорода) и NO_2 (двуокись азота).

3. Прооксидантная антираковая терапия

Как было отмечено ранее, сама идея усиления окислительного (и нитрозативного) стресса, как стратегия уничтожения рака, получила широкую поддержку. В целом, признается, что многие, если не большинство существующих видов лечения рака опираются на этот

механизм, в том числе ионизирующее облучение, разные виды химиотерапии и даже некоторые виды генной терапии. Применение RONS-генерирующих агентов для борьбы с раком, с первого взгляда может показаться парадоксальным, ведь в течение нескольких десятилетий высказывались заявления о том, что RONS индуцируют рак. Считается, что и облучение и чрезмерное воспаление связаны с развитием рака, так как оба эти процесса способствуют генерации RONS. Двойственная природа процесса окисления-восстановления затрудняет ситуацию: лечение может пойти на пользу или во вред, в зависимости от сложного биологического контекста, а также от длительности и интенсивности применения или эндогенной генерации RONS.

Мак и его коллеги отметили, что химиотерапевтические препараты, которые воздействуют на гены, «включающие» (онкогены) или «выключающие» (подавляющие опухоль), на данный момент не вполне эффективны. Это объясняется генетической сложностью опухолей, их мутацией и развитием резистентности к лечению. Опухоль может мутировать самыми разными способами, чтобы защитить себя от специфических генетических путей, поэтому препараты, которые воздействуют на некоторые гены, теряют свою эффективность и, следовательно, терапевтический эффект. Эти же авторы предложили, что более надежной стратегией будет поиск таких препаратов, которые объединят в себе способность повышать уровень окислительного стресса и воздействовать на ферменты, образующие антиоксиданты. Watson также поддерживает этот подход, особенно подчеркивая ту роль, которую антиоксиданты играют для поддержания раковых клеток и необходимость воздействовать на слабые точки опухолей, чтобы бороться с раком на поздней стадии развития.

С этим вопросом также связана потенциально важная роль раковых стволовых клеток (CSC) в рецидивирующих опухолях. После традиционной терапии, основанной на действии RONS, размер опухоли сокращается. Diehn и другие показали, что CSC более устойчивы к облучению, чем обычные опухолевые клетки, что объясняется низким уровнем RONS и, соответственно, высокой концентрацией антиоксидантов. Тот факт, что плазменная онкология основана на аналогичном механизме окислительного стресса, вызывает опасения, что терапия будет столь же неэффективной. Если эти опасения подтвердятся, то CAP терапия не сможет предложить никаких преимуществ, по сравнению с существующими видами лечения. Некоторые авторы полагают, что, так как клетки рака могут адаптироваться к высоким уровням RONS, что приведет к терапевтической резистентности, то необходимо выработать анти-резистентную стратегию.

Большое внимание получила стратегия, связанная с химической сенсibilизацией и радиосенсibilизацией. Речь идет об использовании соединений окиси азота либо через препараты-доноры NO или посредством генной терапии, в которой усиливается синтез окиси азота в ответ на повышенное эндогенное производство NO. Как будет видно из других разделов статьи и показано на Рисунке 2 (взято из работы Lukes), CAP методы могут и действительно вовлекают как активный азот и так и кислород, что дает нам надежду на то, что CAP сможет избежать этой ловушки.

4. Плазмохимия NO_x: способ снизить или отменить резистентность?

Хотя данная статья писалась только как краткое введение в проблему биохимии NO_x и его потенциальных отношений с плазменной онкологией, мы все же не должны недооценивать роль соединений окиси азота в биохимии. Полный обзор окиси азота (NO) и пероксинитрита (ONOO⁻) авторов Pacher и его коллег, а также Szabo и других дает нам некоторое представление о масштабе этой области. Pacher и его коллеги ссылаются примерно на 1500 работ. Примерно 100 000 статей посвящено окиси азота с момента его открытия в 1980-х, как биологически значимой молекулы. Понимание роли CAP в образовании форм, содержащих NO_x, которые смогут взаимодействовать со сложными биохимическими процессами, без сомнения, станет большим шагом вперед, если не сказать больше. Тем не менее, уже есть

предпосылки, что NOx, образованные в результате действия CAP, могут играть очень важную роль в биологическом и медицинском применении. И лечение рака — это только один из вариантов.

Особая значимость NOx для CAP заключается в том, что действие CAP в воздухе может создавать локальную биологически и терапевтически полезную концентрацию NOx. Как было отмечено выше (см. Рисунок 2) и это будет подробнее описано далее в этой статье, источник газовой фазы NOx может быть перенесен в жидкую среду, прилегающую к плазме. Таким образом, мы знаем наверняка, что CAP генерирует такое взаимодействие (например, нитрит NO₂⁻ и пероксинитрит ONOO⁻), которое тесно связано с химической структурой NO, описанной авторами Hirst и Robson и многими другими.

Большое количество литературы посвящено роли окиси азота (NO) и его соединениям в лечении рака. Многие авторы описывают это вещество, как агента, который ресенсибилизирует опухоли. Рисунок 3 иллюстрирует, как окись азота может влиять на раковую терапию. Эти же авторы полагают, что NO может быть, в какой-то степени, «идеальным» противораковым агентом.

Они также отмечают, что наиболее перспективным будет комбинирование NO терапии с другими методами, особенно химической сенсibilизацией и радиосенсibilизацией. Об использовании NO в качестве радиосенсibilизатора было известно еще в конце 1950-х. В более поздних работах отмечалось, что NO способствует коммуникации между клетками. Этот феномен известен как «эффект свидетеля». Это очень важно в контексте плазменной онкологии, так как CAP, как уже было сказано выше, обладает поверхностным действием. А апоптоз-индуцированная информация должна передаваться от места воздействия в глубокие ткани опухоли.

Sonveaux и другие составили список аргументов, почему NO может выполнять роль противоракового агента: (i) расширение кровеносных сосудов; (ii) подавление клеточного дыхания; (iii) прямая радиосенсibilизация; (iv) модуляция противоопухолевого иммунитета; и (v) модуляция ангиогенеза. Недавно Oronsky и его коллеги предложили концепцию «гипонитроксии» или чрезмерно низкий уровень окиси азота, по аналогии с гипоксией (т. е. низкий уровень кислорода). Гипонитроксия инициирует образование и рост опухоли. Авторы описывают «... роль постоянно низкой концентрации NO или гипонитроксию, как ключевую ступень в развитии опухоли». Вауег предоставил доказательство значимости сигнального механизма между опухолевыми клетками с участием NO и ONOO⁻.

Также было показано, что NO является потенциально мощным агентом сенсibilизирующим химиотерапевтические препараты с целью сохранить свою активность в борьбе с разными видами опухолей. Однако Hirst и Robson нашли одно исключение. Возможная роль пероксинитрита была также описана позже в обзоре авторов Hirst и Robson.

Sonveaux и его коллеги кратко оценили ситуацию следующим образом:

- NO может улучшить эффективность традиционных противораковых видов лечения, таких как химиотерапия и радиотерапия. Разные NO-доноры и NOS-агонисты (например, промоторы синтазы окиси азота) были протестированы в доклинических условиях. Были выявлены разные механизмы, которые улучшают приток крови и PO₂ (например, концентрацию O₂ в тканях), улучшая, таким образом, доставку препарата и стабилизируя ДНК повреждения, вызванные облучением.

Влияние NO-доноров и NOS-агонистов на приток крови и концентрацию кислорода в ткани является интересным вопросом для рассмотрения, особенно в свете последних результатов, полученных Collet и его коллегами. Эти авторы показали, что воздействие гелиевой плазменной струи в течение 5 минут на кожу мышей под анестезией индуцирует значительное усиление местного кровотока и повышает концентрацию O₂ в тканях. Высокий уровень концентрации O₂ сохранялся на несколько десятков минут дольше и, как выяснилось, концентрация кислорода была локализована в месте воздействия плазмы. Это

показано на Рисунке 4. Хотя механизм, отвечающий за этот эффект пока еще точно не изучен, авторы уверенно говорят об одном преимуществе — образование в тканях нитрит-аниона NO_2^- . Это хорошо известный предшественник окиси азота в кислой среде. Возможная прямая генерация NO в плазме, была отвергнута в ходе эксперимента. Марлю, пропитанную деионизированной водой, поместили между плазменной струей и кожей. Результат оказался одинаковым. Это доказывает, что эффект зависит от таких веществ, как нитрит, который, как известно, часто образуется в воде под воздействием САР. Ключевой момент в этом сценарии заключается в том, что применение плазмы часто способствует образования нитрата (NO_3^- ; основание, сопряженное с азотной кислотой или HNO_3), следовательно, снижению уровня рН. Известно, что в кислой среде нитрит образует NO (см. разделы далее), поэтому изученные эффекты NO (перечислены выше) на кровоток предполагают, что это может быть причиной полученных результатов эксперимента с мышами, кожа которых было облучена САР. В следующем разделе статьи мы кратко обсудим терапевтическое действие нитрита.

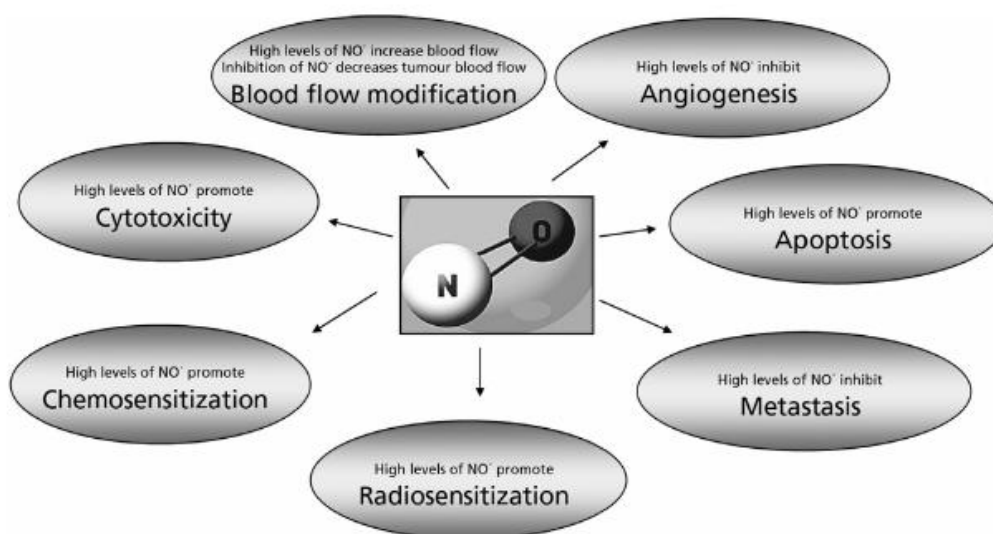
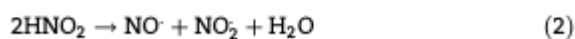


Рисунок 3. Согласно Hirst и Robson. NO в центре положительных терапевтических противораковых действий. Напечатано с разрешения авторов. Copyright 2014. Wiley-Blackwell.

(По часовой стрелке снизу: высокий уровень NO способствует радиосенсибилизации; химической сенсибилизации; цитотоксичности; усиливает кровоток, модифицирует кровоток; ингибирует ангиогенез; ингибирует метастазы).

5. Терапевтическое действие нитрита

В течение десяти лет обсуждается терапевтическое действие нитрит-аниона (NO_2^-), как предшественника окиси азота. Есть несколько способов расщепить нитрит до окиси азота, но почти все они требуют наличия кислой среды и связаны с низкой концентрацией кислорода. В качестве простого примера приведем следующую последовательность реакций, в которой кислая среда способствует образованию NO и NO_2 :



Следует заметить, что реакции в жидкой фазе могут быть намного более сложными, чем здесь, особенно в присутствии эритроцитов или других органических молекул, содержащих металлы. Тем не менее, роль подкисления в «активации» нитрита уже хорошо

известна.

Самое распространенное терапевтическое применение нитрита — в форме водного раствора азотокислого нитрита, который вводится внутривенно и даже перорально. Рисунок 5, взятый из работы Kevil и его коллег, иллюстрирует эту мысль. Удивительно большой охват областей терапевтического применения этой простой молекулы доказывает, что она обладает достаточным потенциалом, чтобы изменять кровоток и действовать на воспалительные реакции. Автор Kevil и другие перечисляют семь разных клинических испытаний (приблизительно 2011 года), в ходе которых тестировались различные аспекты терапии с использованием нитрита. Взаимосвязь между этими задокументированными применениями нитрита и роль плазмы в онкологии все еще остается предметом для обсуждений, но потенциал виден уже сейчас.

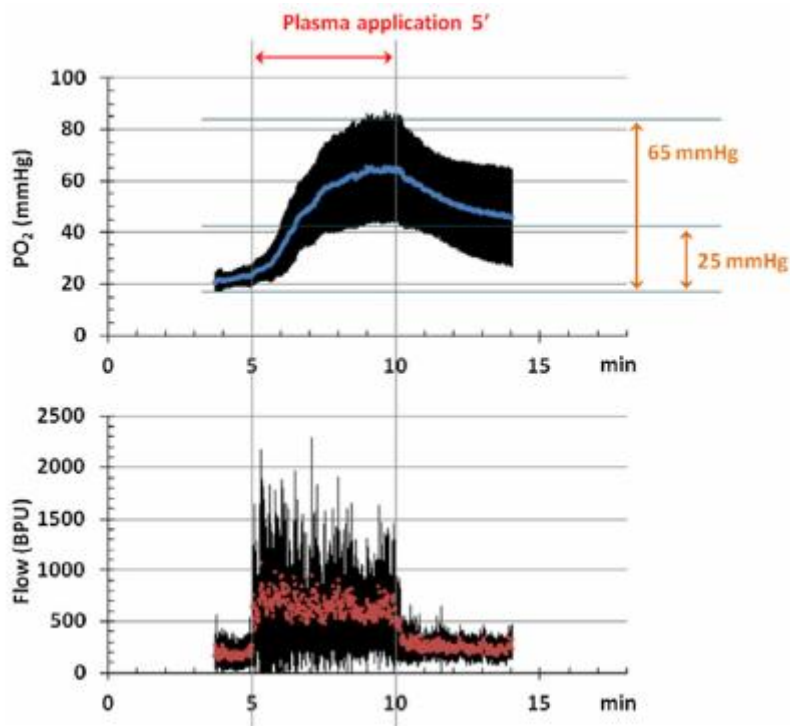


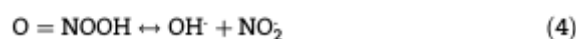
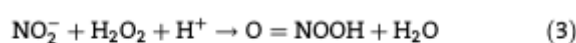
Рисунок 4. Согласно Collet и другим. 5-минутное воздействие струи гелиевой плазмы на кожу пяти мышей (две области у каждой мыши). В результате, наблюдалось значительное повышение концентрации O₂ в подкожных тканях (сверху) и усиление кровотока (снизу). Средние значения отмечены цветными линиями. Напечатано с разрешения авторов. Copyright 2014. Институт физики.

6. RONS воздушной плазмы и взаимодействие плазма-вода

С самого начала применения САР в биомедицинской области отмечалось образование NO_x. Например, авторы Stoffels и другие показали, что NO был одним из самых важных продуктов действия гелиевой плазмы, образовавшийся в воздухе. Bruggeman и другие измерили абсолютную плотность NO при разном атмосферном давлении плазмы инертных газов и результаты оказались намного выше (примерно 10^{14} – 10^{15} см⁻³). О более высоких значениях в своей конфигурации плазменного «факела» сообщали и Vasilets и Shekter. В зависимости от расстояния от области горячей плазмы и потока воздуха, насыщенного парами, они измерили концентрацию NO от нескольких сотен до нескольких тысяч м.д. ($\approx 10^{15}$ см⁻³ — 10^{16} см⁻³). Предположительно, это устройство используется в России примерно с 2000 года для лечения различных ран и с целью стерилизации. Lieberman и другие сообщают о концентрации NO до 200 м.д. при потоке воздуха 300 см³/мин. через струю плазмы атмосферного давления с использованием потока сжатого воздуха. По данным этих авторов, диэлектрический

барьерный разряд поверхности в воздухе генерировал несколько сотен и даже тысяч м.д. NO и NO₂ в ограниченном пространстве рядом с заземляющим электродом. Искровой и тлеющий разряд в воздухе могут способствовать еще более высоким концентрациям.

Если CAP работает рядом с водой, то создается, так называемая, «плазма-активированная вода» или PAW. Компоненты RONS и относительные концентрации PAW, конечно, зависят от типа плазмы (например, струя инертного газа, микроволновой факел, скользящая дуга, диэлектрический барьерный разряд и т. д.), природы массообмена, взаимодействия между газовой и жидкой фазами, присутствием других компонентов в воде и тому подобное. Несмотря на очевидные различия в типах плазмы и рабочих условиях, присутствие соединений NO_x неоднократно наблюдалось в PAW, обычно в присутствии перекиси водорода (H₂O₂) и в кислой среде. Если одновременно отмечается подкисление (например, относительно высокая концентрация H⁺ или H₃O⁺), присутствие перекиси водорода (H₂O₂) и нитрита (NO₂⁻), то это приводит к образованию пероксинитрита, и это соединение может быстро расщепиться до OH и NO₂:



Известно, что пероксинитрит — это очень важный продукт оксида азота и он широко обсуждается в литературе. Механизм образования пероксинитрита из окисленного нитрита и перекиси водорода также давно известен и применяется биохимиками, которые заинтересованы в создании и сохранении этого вещества. В данном случае, применяются конфигурации остановленной струи с добавлением сильного основания сразу же после образования нестабильной пероксоазотной кислоты.

Мне кажется, что самым логичным завершением статьи будет цитата из работы Lukes и его коллег:

Таким образом, бактерицидный эффект воздушной плазмы в воде после заряда влечет за собой синергическое действие в отношении кислой среды, нитритов и пероксидов через цитотоксичную активность вторичных форм реагентов NO, NO₂, OH и ONOOH, а также, возможно, перенос озона из плазмы в жидкую фазу.

Хотя Lukes и его коллеги обсуждали бактерицидное действие PAW, те химические отношения, которые они описывают, несомненно, применимы и к плазменной онкологии.

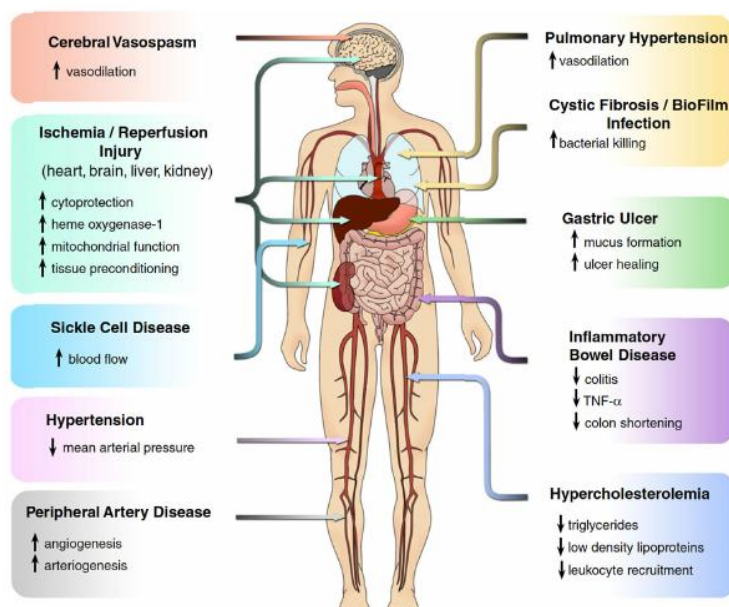


Рисунок 5. Согласно Kevil и другим. Иллюстрация самых значимых терапевтических применений нитрита. Напечатано с разрешения. Copyright 2011. Elsevier.

(Правая колонка, сверху вниз:
Спазм сосудов головного мозга: расширение сосудов.
Ишемия/реперфузионное повреждение (сердце, мозг, печень, почки):
цитопротекция,
гемоксигеназа-1,

митохондриальная функция, подготовка ткани. **Серповидно-клеточная анемия:** кровоток. **Гипертензия:** среднее артериальное давление. **Периферическая артериальная болезнь:** ангиогенез, артериогенез.

Левая колонка сверху вниз: **Легочная гипертензия:** расширение сосудов.

Муковисцидоз/Инфекция биопленки: уничтожение бактерий. **Язва желудка:** восстановление слизистой, лечение язв. **Воспаление кишечника:** колиты, TNF-альфа, уменьшение толстой кишки. **Гиперхолестеринемия:** триглицериды, липопротеины низкой плотности, восполнение лейкоцитов).

7. Заключение

Использование холодной атмосферной плазмы в терапии рака находится еще на самых ранних стадиях своего развития. Предварительные результаты исследований кажутся многообещающими, но прогресс будет намного более заметен, если мы сможем определить хотя бы некоторые наиболее важные механизмы, посредством которых плазма уменьшает размер опухоли. Холодная атмосферная плазма (CAP) в или в сочетании с N₂ и O₂ способствует образованию большого количества форм реактивного кислорода и азота (RONS) в газовой фазе. Эти формы попадают в прилегающую жидкую фазу и образуют сольватированные формы, которые, как известно, участвуют в реакциях с важными биомолекулами, например, белками и липидами. Установлена важная роль RONS (и продуктов их реакции) в терапии рака, например, в радиотерапии и многих видах химиотерапии. Это говорит о том, что противораковое действие CAP вызвано аналогичной или схожей биохимией. Таким образом, мы можем сделать большой шаг вперед, если обратим особое внимание на создание и перенос RONS посредством CAP для усиления эффективности противоракового действия.

Традиционные проокислительные терапии, такие как радиотерапия и химиотерапия, часто ограничены развитием резистентности. Логично предположить, что терапия, основанная на действии CAP может привести к аналогичным последствиям. Однако очевидная роль NO соединений в минимизации резистентности говорит о том, что CAP может превзойти возможности существующих видов лечения рака, так как формы NO_x обычно встречаются среди других продуктов CAP. Результаты последних исследований показали, что CAP усиливает кровоток и повышает концентрацию CO₂, следовательно, CAP может стать эффективной вспомогательной терапией рака.

Более того, в водном растворе под действием CAP образуется нитрит. Это вещество уже применяется в терапевтических целях, значит CAP может принести немалую пользу в онкологии. Применение нитрита в терапии связано с тем, что этот предшественник NO оказывает положительное действие на кровоток, расширяет сосуды, выполняет защитную функцию при ишемии и/или воспалениях. Возможно, с этим связан повышенный уровень локального кровотока и концентрации O₂ у мышей.

Уникальное терапевтическое действие CAP, вероятно, связано со способностью плазмы локально образовывать важные реактивные формы. По сути, появляется возможность доставлять формы, создаваемые CSP другими методами, например, NO-донорских препаратов; NO и/или NO₂ газа; раствора H₂O₂; и нитрита/нитрата в форме водного раствора азота и азотной кислоты. Тот факт, что CAP образует все эти вещества в одном месте и в условиях контроля устройства генерации плазмы, то CAP обладает огромным потенциалом применения на практике. Некоторые устройства подачи CAP обладают такими физическими свойствами, как электрические поля, заряды и фотоны. Объединяясь с реактивными формами, эта технология может иметь еще большие преимущества.

Необходимо проводить дальнейшие исследования, чтобы определить ключевые RONS, генерируемые плазмой и отслеживать их влияние на здоровые и опухолевые клетки. Также необходимо далее изучать ткани, где происходит образование этих форм, как они

переносятся к клеткам, какие реакции в них происходят и, наконец, как это действие переносится на другие клетки.

Received: May 5, 2014; Revised: May 5, 2014; Accepted: June 24, 2014; DOI: 10.1002/ppap.201400068

- [1] G. L. Semenza, *Nat. Rev. Cancer* 2003, 3, 721.
- [2] M. Vanneman, G. Dranoff, *Nat. Rev. Cancer* 2012, 12, 237.
- [3] A. M. Hirst, F. M. Frame, N. J. Maitland, D. O'Connell, *Biomed Res. Int.* 2014, 2014, 878319.
- [4] J. Schlegel, J. K€oritzer, V. Boxhammer, *Clin. Plasma Med.* 2013, 1, 2.
- [5] F. Utsumi, H. Kajiyama, K. Nakamura, H. Tanaka, M. Mizuno, K. Ishikawa, H. Kondo, H. Kano, M. Hori, F. Kikkawa, *PLoS One* 2013, 8, e81576.
- [6] D. B. Graves, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2012, 45, 263001.
- [7] M. F. Renschler, *Eur. J. Cancer* 2004, 40, 1934.
- [8] D. Trachootham, J. Alexandre, P. Huang, *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009, 8, 579.
- [9] C. Gorrini, I. S. Harris, T. W. Mak, *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013, 12, 931.
- [10] J. Watson, *Open Biol.* 2013, 3, 120144.
- [11] A. Matsuzawa, H. Ichijo, *Antioxid. Redox Signal.* 2005, 7, 472.
- [12] P. Lukes, E. Dolezalova, I. Sisrova, M. Clupek, *Plasma Sources Sci. Technol.* 2014, 23, 015019.
- [13] D. Trachootham, W. Lu, M. A. Ogasawara, R.-D. V. Nilsa, P. Huang, *Antioxid. Redox Signal.* 2008, 10, 1343.
- [14] S. C. Gupta, D. Hevia, S. Patchva, B. Park, W. Koh, B. B. Aggarwal, *Antioxid. Redox Signal.* 2012, 16, 1295.
- [15] G. T. Wondrak, *Antioxid. Redox Signal.* 2009, 11, 3013.
- [16] V. Sosa, T. Moline, R. Somoza, R. Paciucci, H. Kondoh, M. E. LLeonart, *Ageing Res. Rev.* 2013, 12, 376.
- [17] H. Pelicano, D. Carney, P. Huang, *Drug Resist. Updat.* 2004, 7, 97.
- [18] H. Wiseman, B. Halliwell, *Inflammatory Dis. Prog. Cancer* 1996, 29, 17.
- [19] S. P. Hussain, L. J. Hofseth, C. C. Harris, *Nat. Rev. Cancer* 2003, 3, 276.
- [20] M. Diehn, R. W. Cho, N. A. Lobo, T. Kalisky, M. J. Dorie, A. N. Kulp, D. Qian, J. S. Lam, L. E. Ailles, M. Wong, B. Joshua, M. J. Kaplan, I. Wapnir, F. M. Dirbas, G. Somlo, C. Garberoglio, B. Paz, J. Shen, S. K. Lau, S. R. Quake, J. M. Brown, I. L. Weissman, M. F. Clarke, *Nature* 2009, 458, 780.
- [21] A. K. Maiti, "Overcoming Drug Resistance Through Elevation of ROS in Cancer," in *Molecular Mechanisms of Tumor Cell Resistance to Chemotherapy*, Vol. 1, B. Bonavida, Ed., New York, NY Springer, 2013, pp. 135–149.
- [22] C. Szabo, H. Ischiropoulos, R. Radi, *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007, 6, 662.
- [23] L. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet, *Physiol. Rev.* 2007, 87, 315.
- [24] D. Hirst, T. Robson, *J. Pharm. Pharmacol.* 2007, 59, 3.
- [25] D. G. Hirst, T. Robson, *Curr. Pharm. Des.* 2010, 16, 45.
- [26] P. Sonveaux, B. F. Jordan, B. Gallez, O. Feron, *Eur. J. Cancer* 2009, 45, 1352.
- [27] M. M. Reynolds, S. D. Witzeling, V. B. Damodaran, T. N. Medeiros, R. D. Knodle, M. A. Edwards, P. P. Lookian, M. A. Brown, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013, 431, 647.
- [28] B. T. Oronsky, S. J. Knox, J. J. Scicinski, *Transl. Oncol.* 2012, 5, 66.
- [29] L. K. Folkes, P. O'Neill, *Nitric Oxide* 2013, 34, 47.
- [30] R. B. Mikkelsen, P. Wardman, *Oncogene* 2003, 22, 5734.
- [31] P. Wardman, K. Rothkamm, L. K. Folkes, M. Woodcock, P. J. Johnston, *Rad. Res.* 2007, 167, 475.
- [32] B. Oronsky, G. R. Fanger, N. Oronsky, S. Knox, J. Scicinski, *Transl. Oncol.* 2014, 7, 167.
- [33] G. Bauer, *Anticancer Res.* 2014, 34, 1467.
- [34] G. Collet, E. Robert, A. Lenoir, M. Vandamme, T. Darny, S. Dozias, C. Kieda, J. M. Pouvesle,

- Plasma Sources Sci. Technol. 2014, 23, 012005.
- [35] C. G. Kevil, G. K. Kolluru, C. B. Pattillo, T. Giordano, *Free Radic. Biol. Med.* 2011, 51, 576.
- [36] D. A. Vitturi, R. P. Patel, *Free Radic. Biol. Med.* 2011, 51, 805.
- [37] J. O. Lundberg, E. Weitzberg, M. T. Gladwin, *Nat. Rev. Drug Discov.* 2008, 7, 156.
- [38] E. Stoffels, Y. A. Gonzalvo, T. D. Whitmore, D. L. Seymour, J. A. Rees, *Plasma Sources Sci. Technol.* 2006, 15, 501.
- [39] A. F. H. van Gessel, K. M. J. Alards, P. J. Bruggeman, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2013, 46, 265202.
- [40] A. F. H. van Gessel, B. Hrycak, M. Jasiski, J. Mizeraczyk, J. A.M. van der Mullen, P. J. Bruggeman, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2013, 46, 095201.
- [41] V. N. Vasilets, A. B. Shekhter, "Nitric Oxide Plasma Sources for Bio-Decontamination and Plasma Therapy, NATO Peace and Security Series A: Chemistry and Biology (Ed: Z. Machala), Springer, pp. 393.
- [42] J. Liebmann, J. Scherer, N. Bibinov, P. Rajasekaran, R. Kovacs, R. Gesche, P. Awakowicz, V. Kolb-Bachofen, *Nitric Oxide* 2011, 24, 8.
- [43] M. J. Pavlovich, D. S. Clark, D. B. Graves, *Plasma Sources Sci. Technol.* 2014, in press.
- [44] D. B. Pavlovich, M. J. Ono, T. Galleher, C. Curtis, B. Clark, D. S. Machala, Z. Graves, *J. Phys. D* 2014, submitted.
- [45] K. Oehmigen, M. Hähnel, R. Brandenburg, C. Wilke, K.-D. Weltmann, T. von Woedtke, *Plasma Process. Polym.* 2010, 7, 250.
- [46] M. Naytali, J.-M. Herry, E. Hnatiuc, G. Kamgang, J.-L. Brisset, *Plasma Chem. Plasma Process.* 2012, 32, 675.
- [47] R. Burlica, R. G. Grim, K.-Y. Shih, D. Balkwill, B. R. Locke, *Plasma Process. Polym.* 2010, 7, 640.
- [48] M. J. Traylor, M. J. Pavlovich, S. Karim, P. Hait, Y. Sakiyama, D. S. Clark, D. B. Graves, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2011, 44, 472001.
- [49] C. A J. van Gils, S. Hofmann, B. K. H. L. Boekema, R. Brandenburg, P. J. Bruggeman, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 2013, 46, 175203.
- [50] Z. Machala, B. Tarabova, K. Hensel, E. Spetlikova, L. Sikurova, P. Lukes, *Plasma Process. Polym.* 2013, 10, 649.
- [51] K. M. Robinson, J. S. Beckman, *Methods Enzymol.* 2005, 396, 207.