

АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ГАЗОРАЗРЯДНЫХ УСТРОЙСТВ

DOI: 10.17691/stm2017.9.1.15

УДК 576.5:536.087/.42:61

Поступила 12.10.2016 г.

© К.А. Астафьева, младший научный сотрудник отдела физико-химических исследований ЦНИЛ;
И.П. Иванова, д.б.н., зав. отделом физико-химических исследований ЦНИЛ

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — анализ цитотоксических эффектов различных газоразрядных технологий.

Материалы и методы. В работе использовали газоразрядные устройства: «Пилимин» серий ИР-1, ИР-10 и «Бриг» — излучение плазмы искрового разряда; ртутную лампу низкого давления ДБК-9 — ультрафиолетовое излучение; устройство для дарсонвализации «Корона» — тихий электрический коронный разряд. Объекты исследования: эритроциты крыс линии Wistar, лимфоидные клетки лимфосаркомы Плисса.

Результаты. Установлено, что все изученные газоразрядные устройства обладают мембранотоксическим и цитотоксическим эффектами. С увеличением времени воздействия общее количество эритроцитов и лимфоидных клеток снижалось, а количество нежизнеспособных клеток — возрастало. Мембрана эритроцитов в меньшей степени устойчива к излучению плазмы искрового разряда с длительностью импульса 1500 мкс и к ультрафиолетовому излучению ртутной лампы. При этом эритроциты менее резистентны к действию газоразрядных устройств, чем лимфоидные клетки. Клетки лимфосаркомы Плисса более чувствительны к воздействию излучением плазмы искрового разряда и коронного разряда с длительностью импульса 1–10 мкс. Излучение плазмы искрового разряда с длительностью импульса 150 мкс в равной степени проявляет и мембранотоксический, и цитотоксический эффекты.

Заключение. Результаты оценки цитотоксического действия разных газоразрядных устройств позволяют определить направление исследований при изучении механизмов действия газоразрядных технологий, в частности рекомендовать более глубокое изучение такого параметра, как длительность импульса разряда.

Ключевые слова: газоразрядные технологии; излучение плазмы искрового разряда; ультрафиолетовое излучение; коронный разряд Дарсонваля.

Как цитировать: Astafyeva K.A., Ivanova I.P. Analysis of cytotoxic effects of medical gas-discharge devices. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2017; 9(1): 115–122, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.1.15>

English

Analysis of Cytotoxic Effects of Medical Gas-Discharge Devices

K.A. Astafyeva, Junior Researcher, Department of Physicochemical Researches,
Central Scientific Research Laboratory;

I.P. Ivanova, DSc, Head of the Department of Physicochemical Researches,
Central Scientific Research Laboratory

Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005,
Russian Federation

The aim of the investigation was to analyze cytotoxic effects of various gas-discharge technologies.

Materials and Methods. The following gas-discharge devices were used in the work: Pilimin series IR-1, IR-10 and Brig — radiation of spark discharge plasma; DBK-9 low-pressure mercury lamp — ultraviolet radiation; Corona device for darsonvalization — silent electric corona discharge. The objects of investigation were erythrocytes of Wistar rats, and lymphoid cells of Pliss lymphosarcoma.

Results. All examined gas-discharge devices were established to possess membranotoxic and cytotoxic effects. The total number of erythrocytes and lymphoid cells diminished, while the number of nonviable cells grew with the increase of exposure time. Erythrocyte membrane was least resistant to the radiation of the spark discharge plasma with 1,500 μ s pulse duration and to ultraviolet radiation of the mercury lamp, whereas erythrocytes were less resistant to the radiation by the gas-discharge devices than lymphoid cells. Pliss

Для контактов: Иванова Ирина Павловна, e-mail: ivanova.ip@mail.ru

lymphosarcoma cells appeared to be more sensitive to the action of spark discharge plasma and corona discharge with 1–10 μ s pulse duration. Radiation of spark discharge plasma with 150 μ s pulse duration exhibited equally membranotoxic and cytotoxic effect.

Conclusion. The results of assessing cytotoxic effect of various gas-discharge devices help to determine the direction of investigations when mechanisms of action of gas-discharge technologies are explored, and to recommend, in particular, a more profound study of such parameter as pulse discharge duration.

Key words: gas-discharge technologies; radiation of spark discharge plasma; ultraviolet radiation; Darsonval corona discharge.

Рост количества неопластических и инфекционных процессов, резистентных к традиционным методам лечения (радиотерапия, химиотерапия, антибиотикотерапия), обуславливает поиск и разработку новых эффективных методов торможения пролиферативной активности неопластических и прокариотических клеток, которые обладают высоким цитотоксическим эффектом и не вызывают выраженного токсического действия на организм в целом. В этой связи большой интерес представляют плазменные газоразрядные технологии, применяемые как в России, так и за рубежом [1–3]. В России широко используются такие газоразрядные устройства медицинского назначения, как кварцевая лампа (разряд в парах ртути) [4] и аппарат для дарсонвализации (тихий коронный разряд) [5]. Исследуются биологические эффекты новых разработанных газоразрядных устройств: «Бриг» (Саров Нижегородской области) и «Пилимин» (Москва), основанных на излучении плазмы искрового разряда [6–9].

Для оценки эффективности цитотоксического действия любого физического или химического фактора необходим первичный скрининг, направленный на оценку резистентности мембраны и клетки в целом к исследуемому воздействию. Анализ структурно-функционального состояния фосфолипидного бислоя клеток дает возможность оценить глубину мембранотоксического эффекта. Скрининговые исследования позволяют дать рекомендации для разработки новых и оптимизации уже имеющихся устройств медицинского назначения.

Цель исследования — анализ цитотоксических эффектов различных медицинских газоразрядных устройств.

Материалы и методы. В работе использовали следующие газоразрядные устройства: устройство для дарсонвализации «Корона» («Новатор», Украина) — тихий электрический коронный разряд, длительность импульса 10 мкс, частота следования импульсов 100 ± 10 Гц, выходное напряжение 16 кВ; устройство «Пилимин ИР-1» (НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына МГУ, Москва) — импульсное излучение плазмы искрового разряда (200–800 нм), длительность импульса 1500 мкс, энергия в импульсе 1,8 Дж, частота импульсов 1 Гц; устройство «Пилимин ИР-10» — импульсное излучение плазмы искрового разряда (200–800 нм), длительность импульса 150 мкс, энергия в импульсе $5,9 \cdot 10^{-2}$ Дж, частота импульсов 10 Гц; устройство «Бриг» (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров Нижегородской области) — импульсное излучение плазмы искрового разряда (200–800 нм), дли-

тельность импульса 1–4 мкс, энергия в импульсе 5 Дж, частота импульсов 1 Гц; ртутная лампа низкого давления ДБК-9 (НПП «Солнышко», Россия) — ультрафиолетовое излучение (220–400 нм), разряд генерируется в парах ртути, мощность 9 Вт, средний поток фотонов ультрафиолетового излучения $5,4 \cdot 10^{-10}$ моль $(\text{см}^2 \cdot \text{с})^{-1}$.

Эксперимент проведен на суспензиях эритроцитов крыс линии Wistar, взвесь лимфоидных клеток лимфосаркомы Плисса. Штамм клеток приобретен в РОНЦ им. Н.Н. Блохина (Москва).

Суспензию эритроцитов готовили следующим образом: животным вводили внутрибрюшинно 0,2 мл гепарина, затем под эфирным наркозом крыс декапитировали, в пробирку с 0,2 мл гепарина забирали цельную кровь и центрифугировали при 3000 об./мин. Для работы эритроциты разводили в 1000 раз раствором Хенкса («Биолот», Россия) с конечной концентрацией $(5–8) \cdot 10^7$ кл./мл.

Работа проведена в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.), и одобрена Этическим комитетом НижГМА.

Взвесь лимфоидных клеток получали путем измельчения ткани лимфосаркомы Плисса в растворе Хенкса и доводили до конечной концентрации $(5–7) \cdot 10^6$ кл./мл.

Для оценки цитотоксических эффектов клетки в объеме 4 мл в стерильных пластиковых чашках Петри диаметром 40 мм обрабатывали исследуемыми физическими воздействиями в течение 30, 60, 120, 300, 600, 1200, 2400, 3600 с. Контролем служили необработанные взвеси эритроцитов и лимфоидных клеток.

Общее количество клеток после воздействия определяли с помощью автоматического цитометра Scepter (Merck Millipore, США). Количество нежизнеспособных клеток после инкубации с трипановым синим оценивали микроскопически (Leica BME; Leica Microsystems, Германия) в камере для подсчета клеток в течение 5 мин (5 мг/10 мл стерильного физиологического раствора).

Микровязкость в зоне белок-липидных контактов и липидного бислоя мембран оценивали по флюоресценции зонда пирена (Sigma-Aldrich, США), для чего раствор пирена в этаноле 0,85 мг/мл разводили в 20 раз [10]. Степень гидрофобности определяли по флюоресценции зонда 1,6-дифенил-1,3,5-гексат-

риена (ДФГ) (Sigma Aldrich, США), для исследования раствор ДФГ в гексане 1 мг/мл разводили в 100 раз [11]. Измерения проводили на спектрофлуориметре «Флюорат-02 Панорама» («Люмэкс», Россия).

Данные, полученные в эксперименте, обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ Excel, Statistica 8.0. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — ошибка среднего. Статистическую значимость различий средних определяли по параметрическому критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. О наличии цитотокси-

ческого эффекта свидетельствует снижение общего количества клеток после воздействия. Одной из самых удобных моделей оценки резистентности мембраны являются эритроциты. Поэтому на первом этапе оценивали изменения общего количества этих клеток после воздействия. Установлено, что с увеличением времени воздействия (для всех исследуемых устройств) общее количество эритроцитов снижалось, а количество нежизнеспособных клеток увеличивалось (рис. 1, а). В процессе исследования были выявлены временные режимы, при которых наблюдался 50% цитотоксический эффект. Для устройства «Пилимин» серий ИР-10, ИР-1 и ртутной лампы ДБК-9 это время

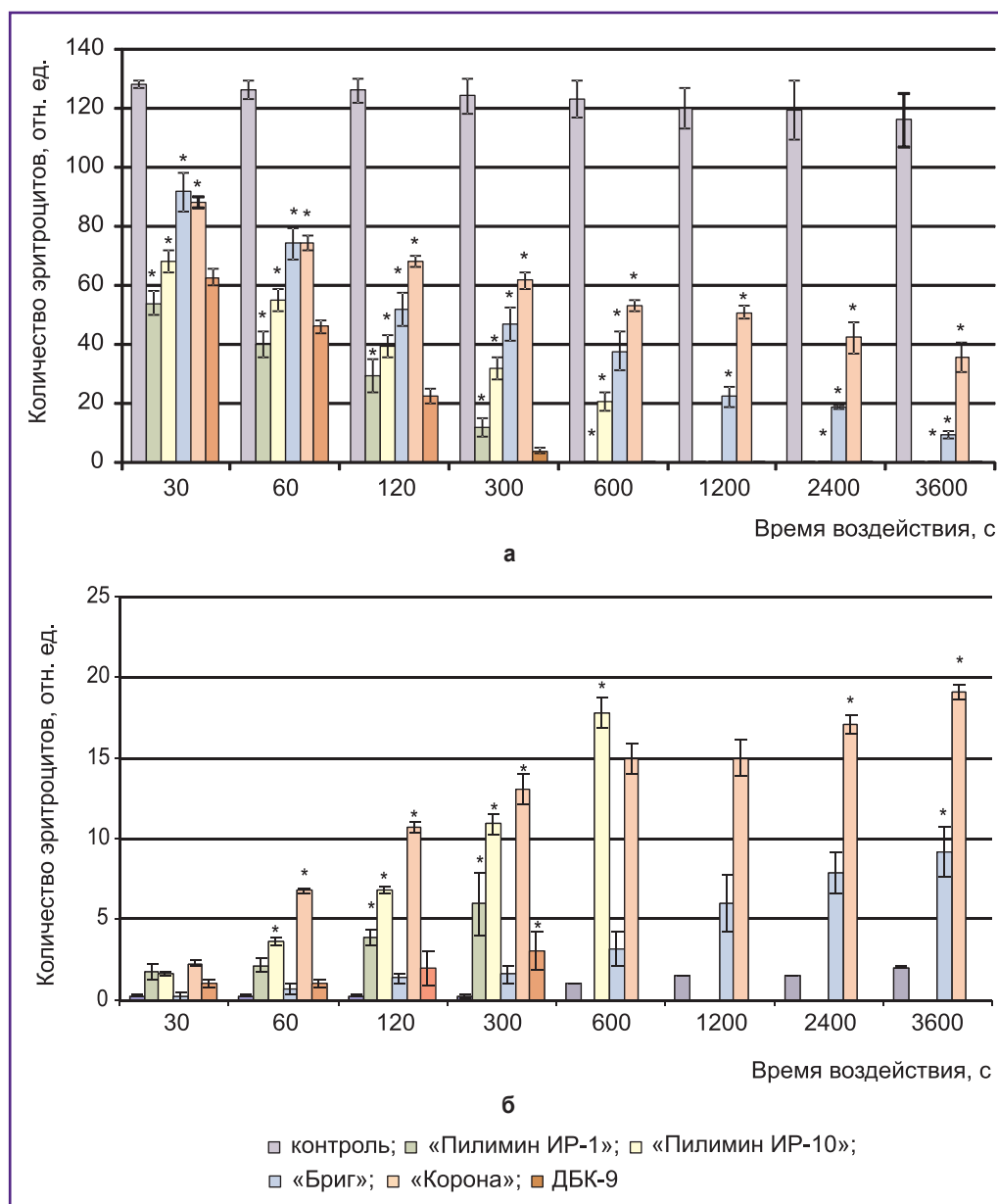


Рис. 1. Изменение эритроцитов после воздействия газоразрядными устройствами: а — общее количество клеток; б — количество нежизнеспособных клеток; * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой, $p < 0,05$

составило 30 с, для устройства «Бриг» — 60 с, для коронного разряда Дарсонваля «Корона» — 300 с. Стопроцентный цитотоксический эффект регистрировали после воздействия ДБК-9 и «Пилимин» ИР-10 в течение 600 с. Для устройств «Бриг» и «Корона» 100% гемолиза эритроцитов не наблюдалось даже при максимальном времени воздействия (3600 с), в суспензии оставалось 9 и 27% клеток соответственно.

Анализ общего количества клеток с помощью автоматического цитометра не позволяет оценить их жизнеспособность. Поэтому для выявления нежизнеспособных клеток использовали витальный тест с трипановым синим.

Установлено, что при увеличении времени воздействия изученными устройствами на суспензию эритроцитов количество нежизнеспособных клеток растет (рис. 1, б).

После воздействия излучениями ртутной лампы ДБК-9 и плазмы искрового разряда «Пилимин ИР-1» в течение 1200 с наблюдался полный гемолиз эритроцитов. После максимального воздействия в течение 3600 с излучением плазмы «Бриг» в суспензии не оставалось жизнеспособных эритроцитов, а после воздействия устройством «Корона» — 46% клеток сохраняли жизнеспособность, а 54% были нежизнеспособными.

Таким образом, мембраны эритроцитов крыс оказались более резистентными к воздействию газоразрядными устройствами «Бриг» и «Корона», что может быть связано с более короткой

длительностью импульса (1–10 мкс) по сравнению с устройствами «Пилимин» серий ИР-1 и ИР-10, у которых длительность импульса 150 и 1500 мкс. Известно, что при короткой длительности импульса накопление радикалов и активных частиц в субстрате идет медленнее [4], поэтому и эритроциты в такой ситуации медленнее гемолизуют, и большее количество клеток сохраняют жизнеспособность. Белковый цитоскелет эритроцитов, отвечающий за эластичность и целостность мембраны [12], в большей степени подвергается деструктивным изменениям после воздействия излучением плазмы искрового разряда с длительностью импульса 1500 мкс и ультрафиолетовым излучением ртутной лампы.

На следующем этапе проанализировано влияние газоразрядных устройств на изменение общего количества и жизнеспособность лимфоидных клеток, так как эти клетки обладают более сложной организацией, чем эритроциты, имеют ядро и внутриклеточные органеллы. Установлено, что с увеличением времени воздействия общее количество лимфоидных клеток снижалось (рис. 2, а), а количество нежизнеспособных — возрастало (рис. 2, б). 50% лизис клеток наблюдался после воздействия устройствами «Пилимин ИР-10» и «Корона» в течение 30 с, ртутной лампой и «Бриг» — в течение 120 с, «Пилимин ИР-1» — в течение 600 с. Стопроцентного цитотоксического эффекта за максимальное время воздействия (3600 с) не установлено. Однако количество нежизнеспособных

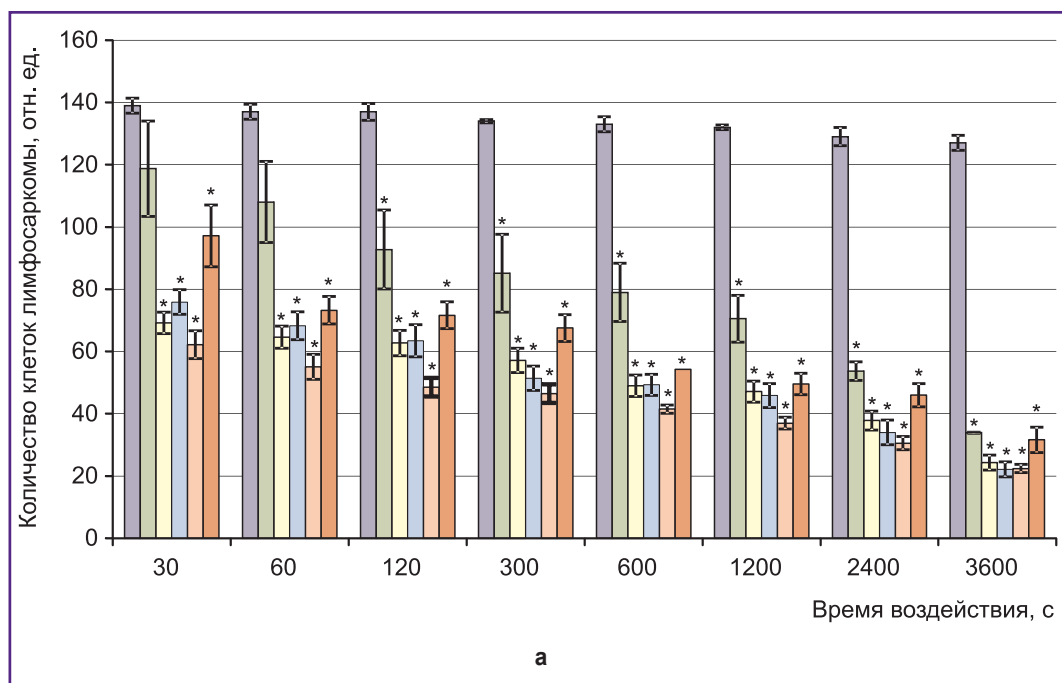
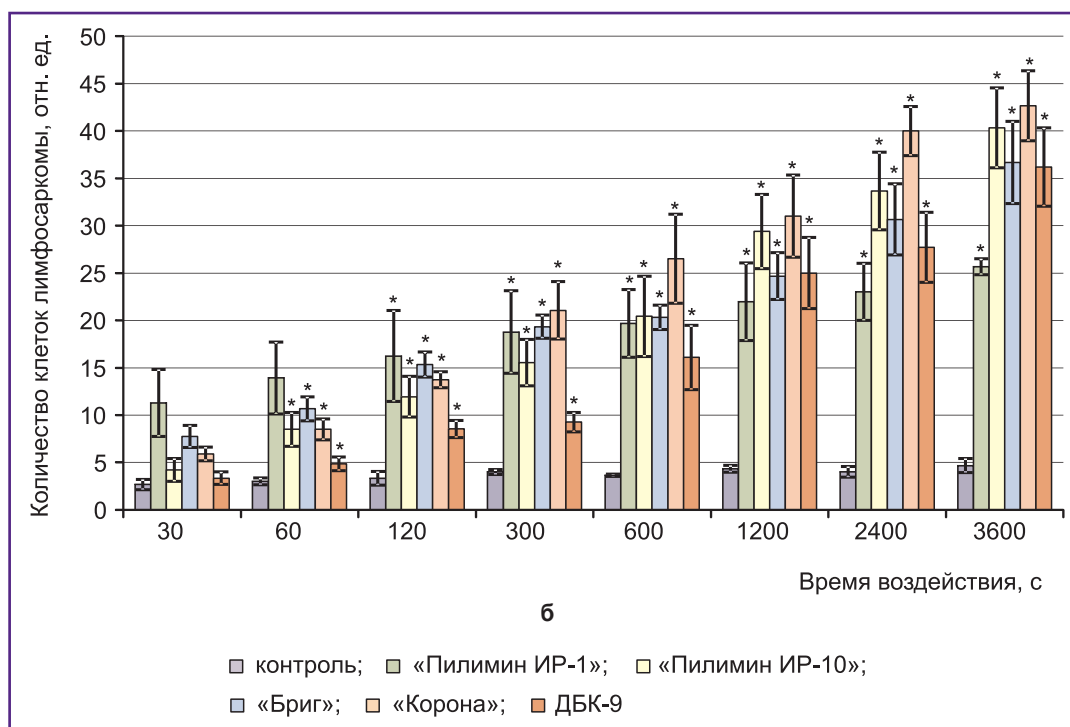


Рис. 2. Изменение лимфоидных клеток после воздействия газоразрядными устройствами: а — общее количество клеток; б — количество нежизнеспособных клеток; * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой, $p < 0,05$



Продолжение рис. 2

клеток после воздействия в течение 3600 с составило: «Пилимин IP-1» — 75%, ртутной лампой ДБК-9 — 86%, «Пилимин IP-10» — 66%, «Бриг» — 83%, «Корона» — 52%.

Таким образом, все изученные газоразрядные устройства обладают и мембранотоксическим, и цитотоксическим действием. Лимфоидные клетки наиболее резистентны к воздействию излучения плазмы искрового разряда устройства «Пилимин IP-1», а мембраны эритроцитов, наоборот, более чувствительны. Длительность импульса излучения плазмы искрового разряда данного устройства в 1000 раз превышает длительность импульса устройства «Бриг» и в 100 раз — «Пилимин IP-10». По всей вероятности, для деструкции цитоскелета и лизиса эритроцита имеет значение именно высокая длительность импульса, а для ядерных клеток с многочисленными мембранными образованиями (ядерная мембрана, комплекс Гольджи, эндоплазматический ретикулум и др.) снижение жизнеспособности связано с интегральным накоплением деструктивных изменений в мембранных структурах при низкой длительности импульсного излучения. Этот факт позволяет сделать вывод, что при создании биомедицинских газоразрядных устройств следует учитывать такой параметр, как длительность импульса разряда.

Сравнивая цитотоксические эффекты газоразрядных технологий на эритроцитах и лимфоидных клетках, можно заключить, что неопластические лимфоидные клетки более устойчивы к действию изученных газоразрядных устройств, так как большее их количе-

ство по сравнению с эритроцитами сохраняет свою целостность и жизнеспособность с увеличением времени воздействия, что может быть связано с большим размером (8–18 мкм, что в 3–4 раза превышает размеры эритроцитов), наличием оформленного ядра, органелл и с повышенной метаболической активностью неопластических клеток [13].

Следует отметить, что исследование резистентности и жизнеспособности клеток не позволяет в полной мере оценить нарушения в структурно-функциональной организации мембран. Поэтому дополнительно были изучены такие параметры, как гидрофобность и микровязкость липидного бислоя и белок-липидных контактов по флюоресценции зондов 1,6-дифенилгексатриена и пирена. Установлено, что гидрофобность мембран по данным интенсивности флюоресценции зонда 1,6-дифенилгексатриена зависит и от времени воздействия, и от используемого газоразрядного устройства (рис. 3).

Гидрофобность мембран возрастает с увеличением времени воздействия на суспензию лимфоидных клеток излучением ртутной лампы ДБК-9 и устройством «Бриг» в 5,3 и 2 раза соответственно, что может свидетельствовать об уплотнении фосфолипидного бислоя за счет окисления двойных связей жирных кислот, и в конечном итоге — о снижении проницаемости мембраны [14]. При воздействии излучением плазмы искрового разряда устройства «Пилимин» серий IP-1 и IP-10 наблюдается снижение гидрофобности с увеличением времени воздействия в 1,76 и 1,75

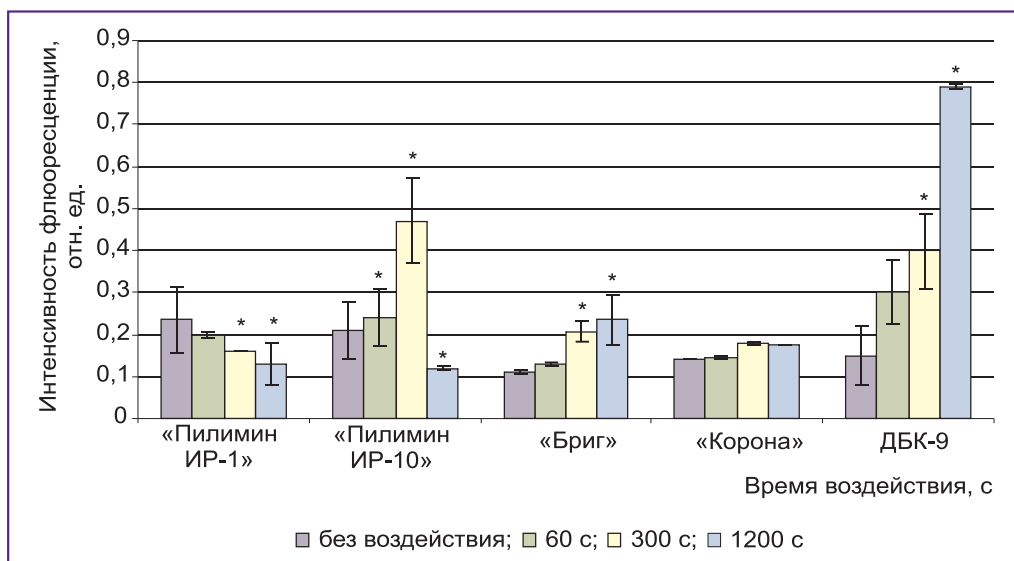


Рис. 3. Интенсивность флуоресценции 1,6-дифенилгексатриена в бислое лимфоидных клеток после воздействия газоразрядными устройствами; * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой, $p < 0,05$

раза соответственно. В этом случае снижение гидрофобности может быть связано с разрыхлением фосфолипидного бислоя и увеличением проницаемости клетки [14]. Гидрофобность мембран после воздействия устройством «Корона» не изменяется, следовательно, не меняются проницаемость мембраны и уровень окисленности жирных кислот фосфолипидов.

С помощью эксимеризации зонда пирена была исследована микровязкость липидного бислоя и белок-липидных контактов. Установлено, что с увеличением времени воздействия излучением плазмы искровых разрядов «Пилимин» серий ИР-1, ИР-10 и «Бриг» микровязкость бислоя лимфоидных клеток снижается в 1,5 раза (рис. 4, а), следовательно, подвижность жирнокислотных цепей фосфолипидов растет. Воздействие ультрафиолетовым излучением ртутной лампы ДБК-9 в течение 1200 с приводит к увеличению микровязкости на 32%, что говорит о снижении подвижности фосфолипидов и вероятном снижении проницаемости мембран. Статистически значимых различий в гидрофобности мембран после воздействия коронными разрядами Дарсонваля не выявлено.

Как известно, флуоресцентный зонд пирен связывается с жирными кислотами фосфолипидов и встраивается в гидрофобные области. Флуоресценция пирена чувствительна к изменению микроокружения белков и липидов [10].

Микровязкость белок-липидных контактов (рис. 4, б) снижается в процессе воздействия излучением устройства «Пилимин» серий ИР-1, ИР-10 и ртутной лампы ДБК-9 в 1,9; 2,4 и 4,07 раза соответственно. Увеличение микровязкости в 2 раза наблюдается при воздействии излучением плазмы «Бриг».

Из работ L.M.S. Loura и др. [15] известно, что пирен ковалентно связывается с боковыми цепями белка в фосфолипидном бислое, поэтому как увеличение, так и снижение эксимеризации пирена свидетельствует о нарушении ковалентных связей белков и липидов после воздействия. Изменение таких параметров, как микровязкость и гидрофобность, будет нарушать работу транспортных АТФ-аз клетки, рецепторных систем, изменять проницаемость мембраны и в конечном итоге приводить к гибели клетки [16].

Таким образом, все изученные устройства обладают цитотоксическим и мембранотоксическим эффектом. Однако к воздействию коронных разрядов Дарсонваля и излучению плазмы искрового разряда с длительностью импульса 1–10 мкс эритроциты более резистентны, а к воздействию ультрафиолетового излучения ртутной лампы и излучению плазмы искрового разряда с высокой длительностью импульса менее резистентны. Лимфоидные клетки лимфосаркомы Плисса более чувствительны к воздействию излучением плазмы искрового разряда и коронного разряда с короткой длительностью импульса и более резистентны к воздействию ультрафиолетовым излучением ртутной лампы, а также излучением плазмы искрового разряда с длительностью импульса 1500 мкс.

Излучение плазмы искрового разряда и ультрафиолетовое излучение ртутной лампы вызывают повреждение в мембранных структурах клеток, т.е. обладают более выраженным мембранотоксическим эффектом, а цитотоксический эффект коронного разряда Дарсонваля, по-видимому, в большей степени связан с метаболическими изменениями в клетке, чем с нарушениями в фосфолипидах мембран. Излучение

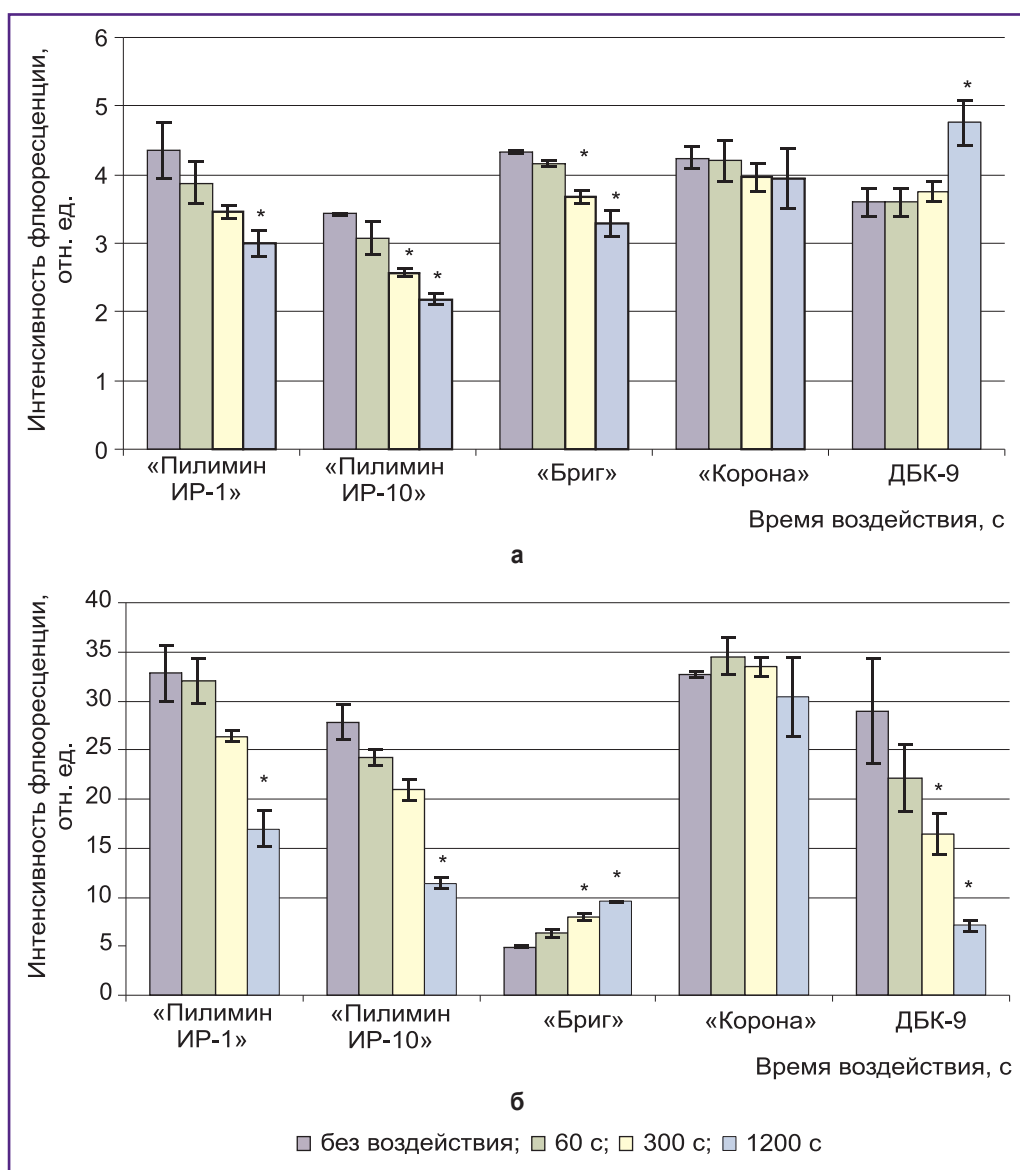


Рис. 4. Изменение микровязкости фосфолипидного бислоя (а) и белок-липидных контактов лимфоидных клеток (б) после воздействия газоразрядными устройствами по данным интенсивности флуоресценции зонда пирена; * — статистическая значимость различий значений с контрольной группой, $p < 0,05$

плазмы искрового разряда с длительностью импульса 150 мкс в равной степени проявляет и мембранотоксический, и цитотоксический эффекты.

Заключение. Результаты оценки цитотоксического действия разных газоразрядных устройств позволяют определить направление исследований при изучении механизмов действия газоразрядных технологий, в частности рекомендовать более глубокое изучение такого параметра, как длительность импульса разряда.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Sasai Y., Kondo S., Yamauchi Y., Kuzuya M. Plasma surface modification of polymer substrate for cell adhesion control. *J Photopolym Sci Technol* 2010; 23(4): 595–598, <https://doi.org/10.2494/photopolymer.23.595>.
2. Steinbeck M.J., Chernets N., Zhang J., Kurpad D.S., Fridman G., Fridman A., Freeman T.A. Skeletal cell differentiation is enhanced by atmospheric dielectric barrier discharge plasma treatment. *PLoS One* 2013; 8(12): e82143, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082143>.
3. Иванова И.П., Заславская М.И. Бицидный эффект некогерентного импульсного излучения искрового разряда в экспериментах in vitro и in vivo. *Современные технологии в медицине* 2009; 1: 28–31. Ivanova I.P., Zaslavskaya M.I.

Biocyclic effect of the spark discharge non-coherent impulse radiation in experiments in vitro and in vivo. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2009; (1): 28–31.

4. Piskarev I.M., Ivanova I.P., Trofimova S.V. Comparison of chemical effects of UV radiation from spark discharge in air and a low-pressure mercury lamp. *High Energy Chemistry* 2013; 47(5): 247–250, <https://doi.org/10.1134/s0018143913050093>.

5. Ziskin M.C. Millimeter waves: acoustic and electromagnetic. *Bioelectromagnetics* 2012; 34(1): 3–14, <https://doi.org/10.1002/bem.21750>.

6. Иванова И.П., Проданец Н.В., Спилов Г.М. Морфологические изменения внутренних органов крыс с переносимой лимфосаркомой Пласса при воздействии некогерентным импульсным излучением. *Морфология*; 2004; 4: 52. Ivanova I.P., Prodanets N.V., Spirov G.M. Morphological alterations of internal organs of the rats with transplantable Pliss' lymphosarcoma exposed to incoherent pulse radiation. *Morfologiya*; 2004; 4: 52.

7. Архипова Е.В., Иванова И.П. Воздействие некогерентного импульсного излучения на функциональное состояние мононуклеарных клеток в эксперименте. *Современные технологии в медицине* 2013; 5(1): 27–31. Arkhipova E.V., Ivanova I.P. The effect of non-coherent impulse radiation on functional status of mononuclear cells in experiment. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2013; 5(1): 27–31.

8. Иванова И.П., Трофимова С.В., Ведунова М.В., Жаберева А.С., Бугрова М.Л., Пискарев И.М., Карпель Вель Лейтнер Н. Оценка механизмов цитотоксического действия излучения газоразрядной плазмы. *Современные технологии в медицине* 2014; 6(1): 14–22. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Vedunova M.V., Zhabereva A.S., Bugrova M.L., Piskaryov I.M., Karpel Vel Leitner N. Assessment of cytotoxic effect mechanisms of gas-discharge plasma radiation. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2014; 6(1): 14–22.

9. Иванова И.П., Трофимова С.В., Карпель Вель Лейтнер Н., Аристова Н.А., Архипова Е.В., Буркина О.Е., Сысоева В.А., Пискарев И.М. Анализ активных продуктов излучения плазмы искрового разряда, определяющих биологические эффекты в клетках. *Современные тех-*

нологии в медицине 2012; 2: 20–30. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Karpel Vel Leitner N., Aristova N.A., Arkhipova E.V., Burkhina O.E., Sysoeva V.A., Piskaryov I.M. The Analysis of active products of spark discharge plasma radiation determining biological effects in tissues. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2012; 2: 20–30.

10. Bains G., Patel A.B., Narayanaswami V. Pyrene: a probe to study protein conformation and conformational changes. *Molecules* 2011; 16(12): 7909–7935, <https://doi.org/10.3390/molecules16097909>.

11. Drahota Z., Palenickova E., Endlicher R., Milerova M., Brejchova J., Vosahlikova M., Svoboda P., Kazdova L., Kalous M., Cervinkova Z., Cahova M. Biguanides inhibit complex I, II and IV of rat liver mitochondria and modify their functional properties. *Physiol Res* 2014; 63(1): 1–11.

12. Salcedo-Sicilia L., Granell S., Jovic M., Sicart A., Mato E., Johannes L., Balla T., Egea G. β III spectrin regulates the structural integrity and the secretory protein transport of the Golgi complex. *J Biol Chem* 2012; 288(4): 2157–2166, <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.406462>.

13. Джу́жа Д.А. Диагностическая эффективность в онкологии позитронной эмиссионной томографии с 18 F-фтордезоксиглюкозой. *Онкология* 2010; 12(3): 296–303. Dzhuzha D.A. Diagnostic efficacy of positron emission tomography with 18 F-fluorodeoxyglucose in oncology. *Onkologiya* 2010; 12(3): 296–303.

14. Ibarguren M., López D.J., Escribá P.V. The effect of natural and synthetic fatty acids on membrane structure, microdomain organization, cellular functions and human health. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1838(6): 1518–1528, <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.12.021>.

15. Loura L.M.S. Lateral distribution of NBD-PC fluorescent lipid analogs in membranes probed by molecular dynamics-assisted analysis of Förster Resonance Energy Transfer (FRET) and fluorescence quenching. *Int J Mol Sci* 2012; 13(12): 14545–14564, <https://doi.org/10.3390/ijms131114545>.

16. Alakhova D.Y., Kabanov A.V. Pluronic and MDR reversal: an update. *Mol Pharm* 2014; 11(8): 2566–2578, <https://doi.org/10.1021/mp500298q>.