

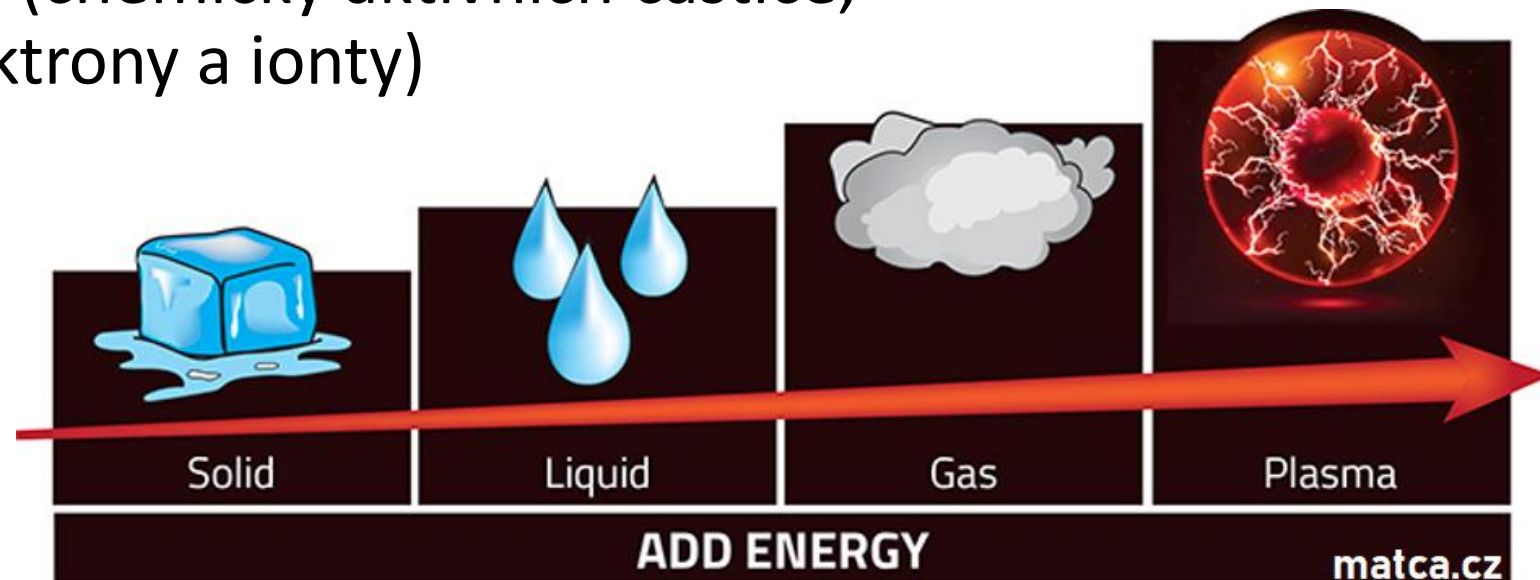
# Využití nízkoteplotního plazmatu v terapeutických aplikacích, pro dekontaminaci a sterilizaci



**Lukáš Vacek**  
(Lékařská fakulta, Masarykova univerzita,  
Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně)

# Plazma

- vzniká **odtržením elektronů z elektronového obalu atomu** plynu či ionizací za působení energie (např. elektrickým výbojem)
- dochází ke **tvorbě excitovaných a ionizovaných částic** za zachování celkové elektroneutrálnosti plynu
- **částečně ionizovaný plyn** (chemicky aktivních částice, ROS, RNS, UV fotony, elektrony a ionty)



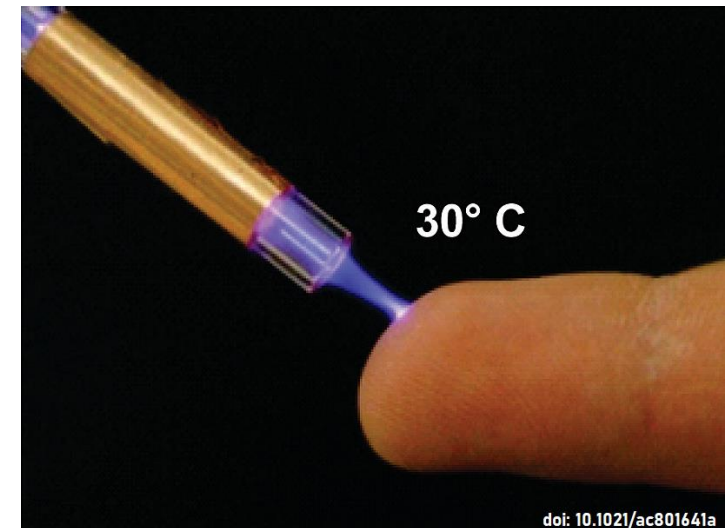
# Druhy plazmatu podle teploty

- **vysokoteplotní plazma**

- střední energie nabitých částic větší než 100 eV, což odpovídá řádově  $10^6$  K
- hvězdy, termonukleární syntézou

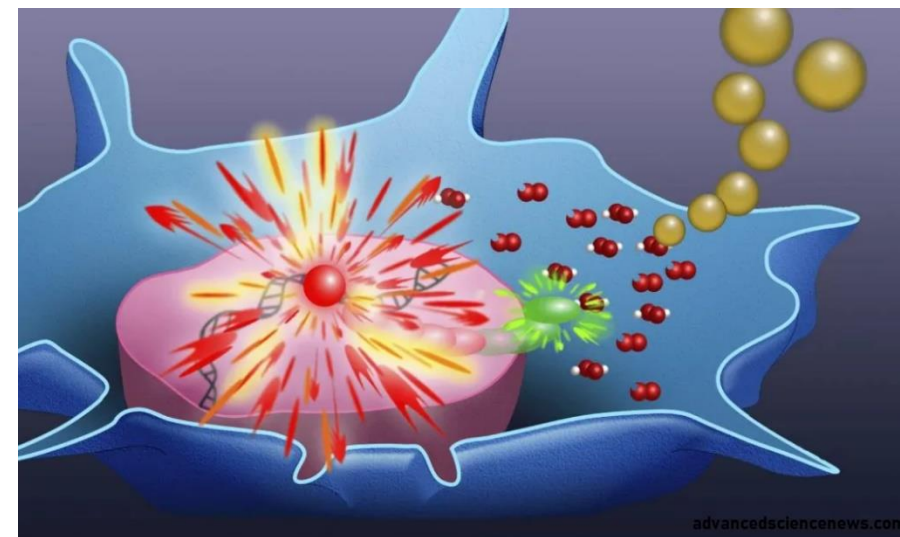
- **nízkoteplotní plazma (LTP)**

- vysokou teplotu mají pouze elektrony
- celková teplota plynu zůstává relativně nízká ( $< 40$  °C)



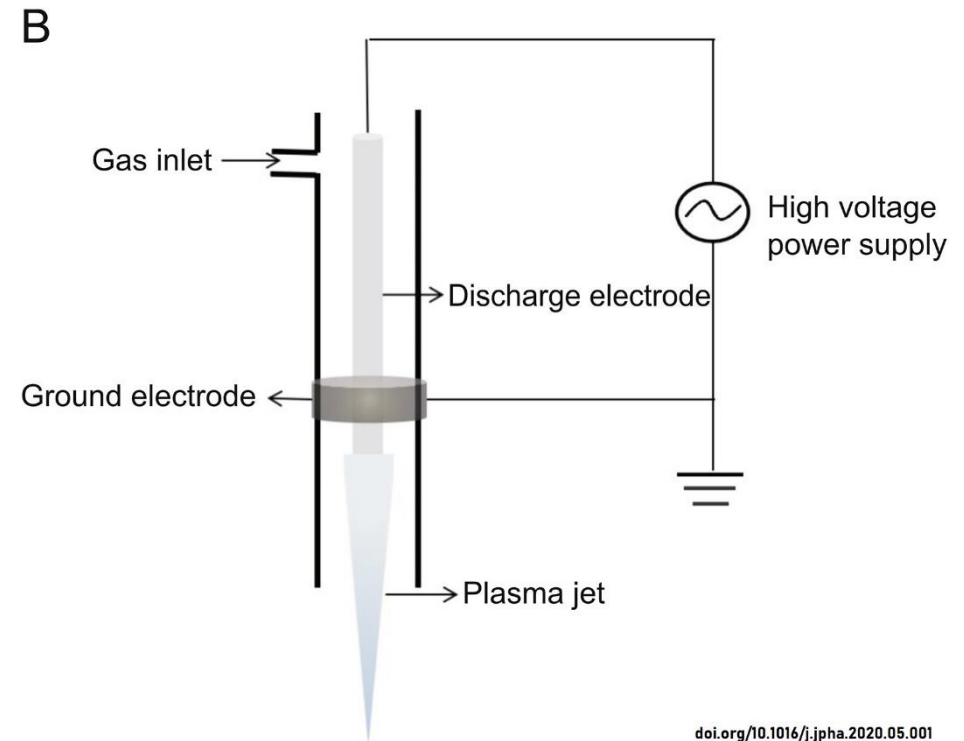
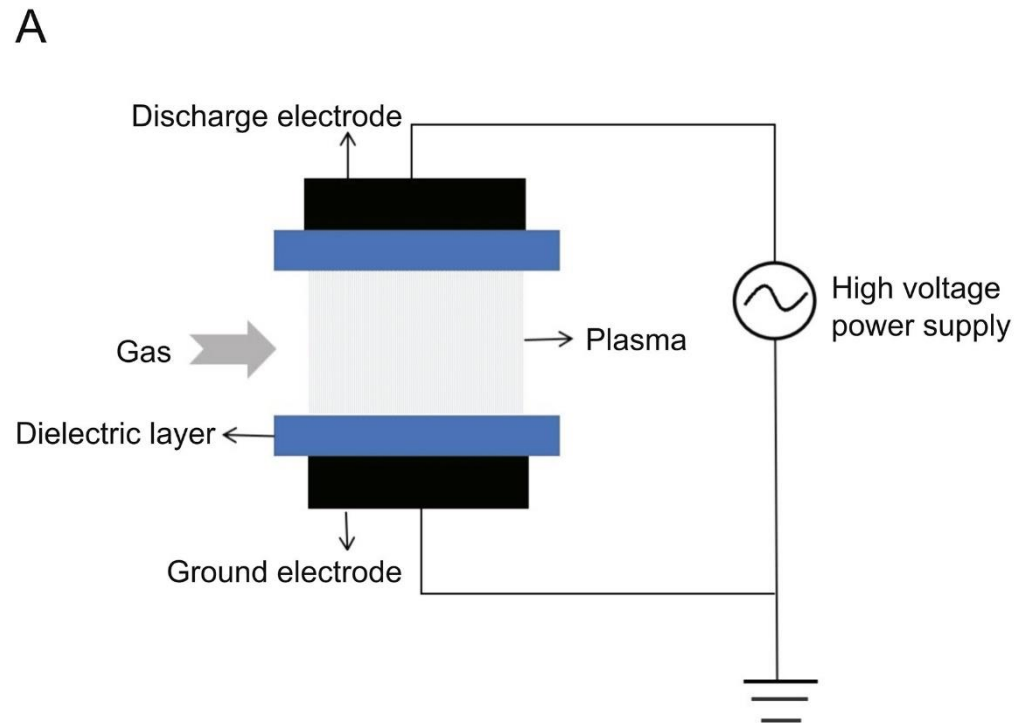
# Nízkoteplotní plasma (LTP)

- **přítomnost vysoce reaktivních částic při nízké teplotě (< 40 °C)**
- **reaktivní formy kyslíku:** hydroxylové radikály, ozón, singletový kyslík, peroxid vodíku, hydroperoxylový radikál (superoxid), ...
- **reaktivní formy dusíku:** oxid dusnatý, oxid dusičitý, peroxyinitrit, ...
- **UV záření** (vliv na další tvorbu RONS)
- **elektromagnetické záření** (elektroporace membrán)
- **silně zvyšuje oxidativní stres působící na prokaryotické a eukaryotické buňky**



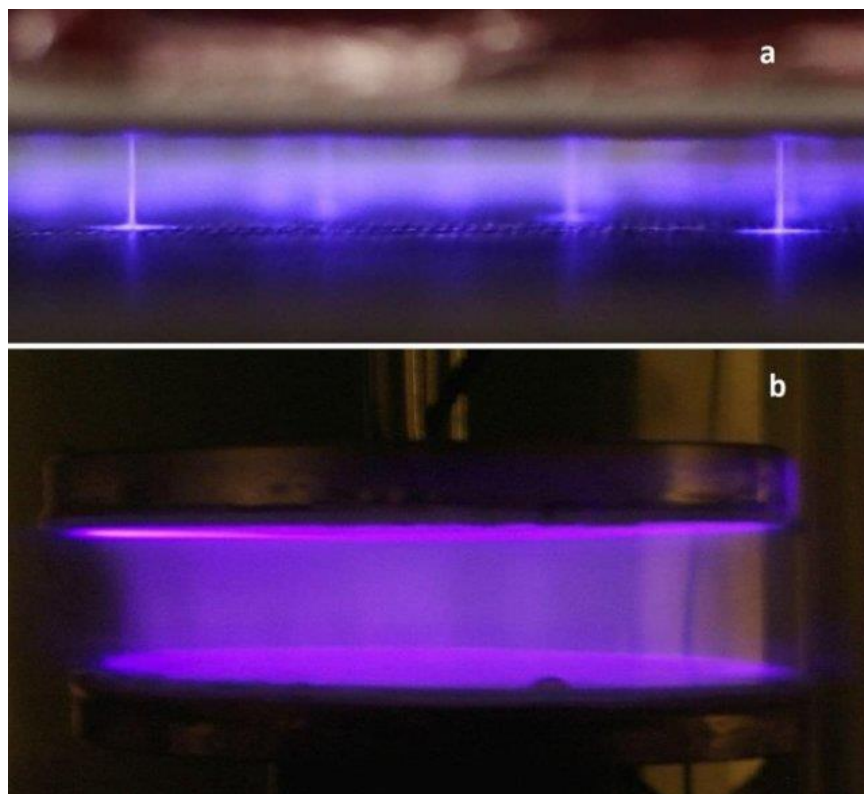
# Zdroje nízkoteplotního plazmatu

- A – **dielektrický bariérový výboj** (Dielectric Barrier Discharge, DBD)
- B – **plazmové trysky** (Atmospheric Pressure Plasma Jets, APPJ)

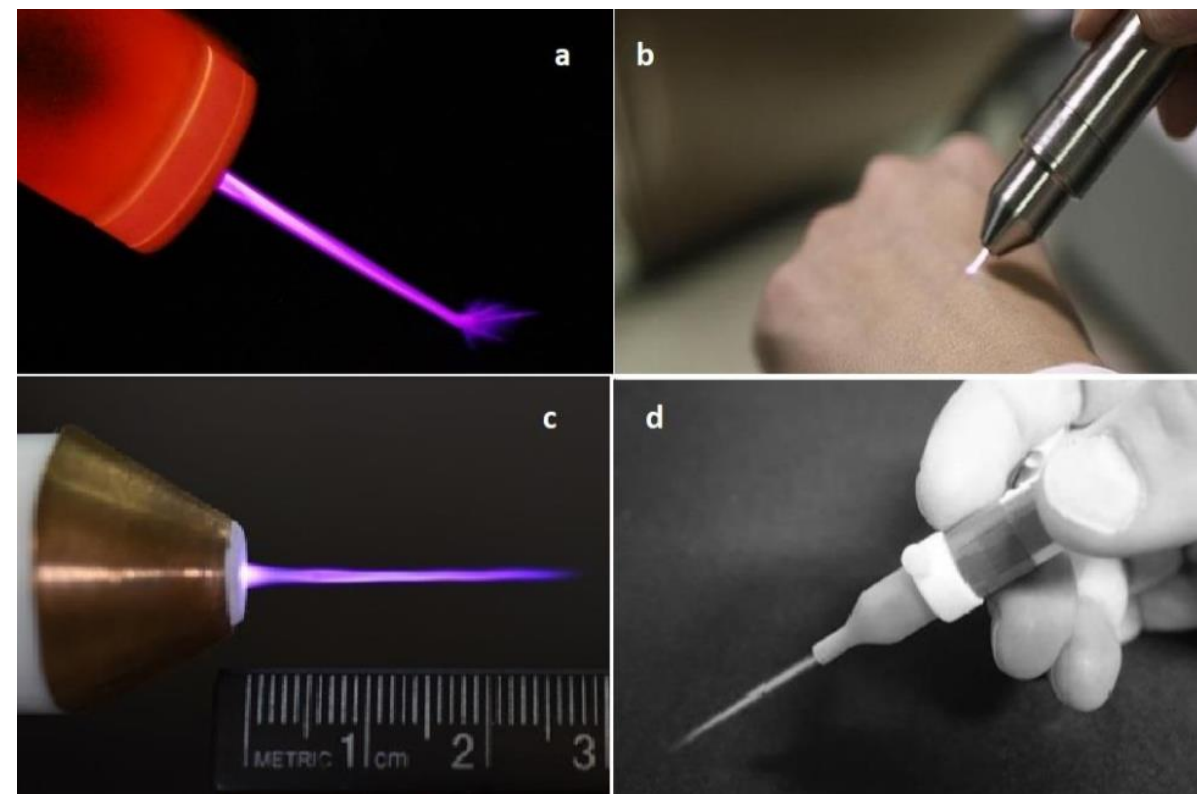


# Zdroje nízkoteplotního plazmatu (2)

dielektrický bariérový výboj

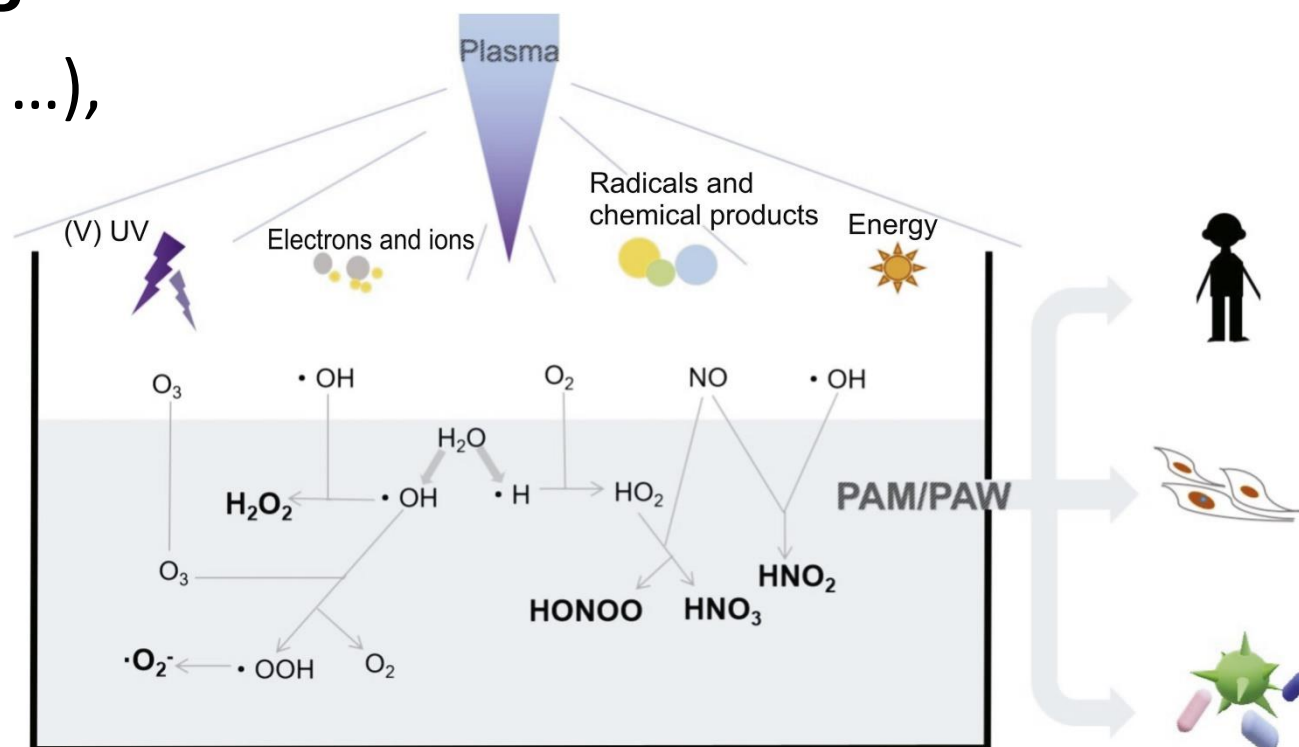


plazmové trysky



# Expozice vzorků

- **přímá: vystavení vzorku všem složkám LTP** (reaktivní i nabité částice, elektromagnetické pole, fotony záření, ...)
- **nepřímá: vystavení tekutiny LTP** (voda, kultivační médium, pára, ...), **následné vystavení vzorku plazmou aktivované tekutině**



# Aplikační potenciál nízkoteplotního plazmatu

- terapeutické aplikace
- povrchové modifikace
- dekontaminace a sterilizace





# Terapeutické aplikace

- **onemocnění spojená s mikrobiálním biofilmem:**
  - efektivní vůči širokému spektru **G+ i G- bakterií i mikromicet, vč. důležitých multirezistentních bakterií, např. MRSA, VRE, ESLB kmeny** (např. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas* spp., *C. albicans*, *Trichophyton* spp., *Microsporum* spp., ...) **bez známek tvorby rezistence**
  - **chronické rány: stejná nebo lepší účinnost dekontaminace rány ve srovnání s použitím chlorhexidinu**
  - **akutní (iatrogenní) rány:** iniciační stádia srovnatelná s konvenční léčbou, **v dalších stádiích pozorován superiority efekt, vč. lepšího estetického výsledku**
  - **diabetické rány:** snížení zánětlivé reakce, zvýšení angiogeneze, celkové zlepšení hojení a uzavření rány

# Terapeutické aplikace (2)

- **onemocnění spojená s orálním biofilmem:**
  - **dezinfekce zubních kanálků:** standardně chlornan sodný nebo chlorhexidin, **LTP vykazuje stejný efekt jako NaClO a lepší než chlorhexidin**, nejlepší v kombinaci
  - **periimplantitida:** biofilmem způsobený zánět okolo dentálního implantátu **vedoucí ke ztrátě implantátu**; při *in vitro* testech prokázán **superiorní antimikrobiální efekt LTP** oproti kontrole (NaClO) na biofilmu *S. mitis*
  - **redukce biofilmu anaerobních bakterií** (*P. gingivalis*, *F. nucleatum*)
    - bezpečné pro epitel dásně
    - chlorhexidin vykazoval lepší účinnost (kombinace nebyla testována)



# Terapeutické aplikace (3)

- **vliv na viry:**

- zejména působením ROS a RNS, vliv elektromagnetického záření minimální

- **LTP a množství životaschopných virových částic na povrchu či roztoku:**

- **snižuje:** některé adenoviry (HAdV-5, HAdV-37), chřipkové viry, RS-virus, SARS-CoV-2

- **nesnižuje či zvyšuje:** adenoviry (HAdV-4, HAdV-20, HAdV-35, HAdV-50), HSV-1

- **léčba herpes zoster:**

- **snížení bolestivosti**

- (jak celkově, tak ihned po aplikaci LTP)

- **zrychlení nástupu hojení** již v prvních dnech

- **bez vedlejších účinků**



# Terapeutické aplikace (4)

- **onkologická léčba:**

- **protinádorový efekt:** zvýšení oxidativního stresu, stimulace proapoptických signálních drah (p53), stimulace makrofágů, zvýšení produkce TNF- $\alpha$
- **testování na buněčných liniích: selektivní destrukce nádorových buněk** bez poškození normálních buněk (melanom, neuroblastom, glioblastom, kolorektální karcinom, ...)
- ***in vivo* experimenty na myších modelech:**
  - dvakrát vyšší přežívání myší s neuroblastomem po jedné transdermální aplikaci LTP (bez vpichů či řezů)
  - potlačení metastazování ovariálních a pankreatických nádorů po intraperitoneální aplikaci plazmou aktivovaného Hartmannova roztoku (Ringer-laktát)
- **klinické testování na pacientech s nádory hlavy a krku** (u některých zmenšení nádorů, zvýšení množství apoptických buněk, snížení bolestivosti)
  - zatím malé množství dat pro odhadnutí potenciálu v protinádorové léčbě

# Povolení a certifikace

- **přístroje pro použití v medicíně:**
  - kINPen<sup>®</sup>MED (plazmová tryska), PlasmaDerm<sup>®</sup> VU-2010 (DBD), ...
  - certifikace pro léčbu akutních a chronických ran a redukce mikrobiální nálože
- **LTP technologie povolena FDA:**
  - 2019: pro klinické zkoušky léčby nádorů
  - „compassionate use“: zejména v situaci bez možnosti zařazení do studie a pokud není dostupná jiná terapie

# Povrchové modifikace implantátů

- **cíle:**

- **zlepšení osteointegrace implantátů** (zlepšení fixace materiálů a formování okolní kostní tkáně) **zvýšením volné povrchové energie a funkcionalizací povrchu**
- **eliminace periimplantitidy** (zánětlivý ústup kosti v okolí implantátu)

- **dentální implantáty:**

- titanové, hydroxyapatit; LTP využívající argon lepší než vzduch
- **lepší účinek na titanové implantáty**
- ***in vivo* experimenty:**
  - **pes:** 300 % **lepší osteointegrace** pro titan; 80 % zlepšení pro hydroxyapatit
  - **prase:** zlepšení kontaktu kost/implantát, **zvýšení denzity kosti** při povrchu implantátu, **bez známek periimplantitidy**

# Dekontaminace a sterilizace

- **použití v medicíně:** sterilizace předmětů, dekontaminace teplocitlivých pomůcek (endoskopy)
- **další použití: potravinářství** (dezinfekce potravin a jejich obalů při zpracování), **zemědělství** (zvýšení výnosnosti dekontaminací zrn → zlepšení klíčení zrn, ochrana rostlin před patogeny)
- **LTP schopno efektivně inaktivovat:**
  - **bakterie, mikromycety, viry** (v řádu desítek sekund až jednotek minut)
  - **biofilmy, exospory, endospory, toxiny** (řádově desítky minut)
  - omezené působení na priony

# Dekontaminace a sterilizace (2)

## Nízkoteplotní plazma

- nízká provozní teplota
- kompatibilita s teplocitlivými materiály
- schopnost plynu penetrovat do dutin
- celý cyklus probíhá za atmosférického tlaku
- jednoduchá konstrukce
- **levnější řešení**
- **bez toxických produktů**

## Sterilizace v EtO nebo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

- cykly vakua a atmosférického tlaku
- složitější konstrukce
- **vyšší cena**
- **možné toxické produkty (EtO)**
- plazma aplikováno pro eliminaci toxických produktů



# Závěry:

- **nový a dynamicky se rozvíjející obor**
- **léčba ran (antimikrobiální aktivita, nevznikají rezistence)**
- **léčba orálních infekcí, snížení rizika periimplantitidy**
- **budoucí léčba nádorů?**
- **modifikace povrchů implantátů**
- **levnější sterilizace teplocitlivých materiálů**