

Danno indotto da UVA e UVB ed effetto protettivo del Timolo in linee cellulari di cheratinociti umani (NCTC 2544 e HaCaT)

R. Calò, M. Mapelli, C.M.E. Visone, L. Marabini

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

La radiazione ultravioletta (UV) rappresenta una parte dello spettro elettromagnetico con lunghezze d'onda comprese tra 100 nm e 400 nm; comprende tre regioni: UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) e UVC (100-280 nm). La luce solare che raggiunge la superficie della Terra è costituita soprattutto da UVA (95%) e UVB (5%). I raggi UVC, invece, sono trattenuti quasi completamente dalla fascia di ozono, per questo motivo il loro coinvolgimento nella cancerogenesi cutanea indotta da esposizione alla luce solare non risulta rilevante.

I raggi UVA penetrano nella cute fino al derma e agiscono promuovendo la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che sono in grado di ossidare molteplici macromolecole biologiche tra cui anche il DNA. L'interazione tra i ROS e la doppia elica può portare a fenomeni di rottura del singolo filamento (SSB), crosslink tra DNA e proteine e soprattutto ossidazione delle basi. Gli UVB, in grado di penetrare solo fino allo strato epidermico, sono direttamente assorbiti dal DNA e generano la produzione di fotoprodotto (6-4 pirimidina-pirimidone fotoprodotto, 6-4 PP) soprattutto dimeri di pirimidine (CPDs).

Negli ultimi decenni, sono state proposte e studiate numerose molecole, note per le molteplici proprietà biologiche, al fine di supportare e/o coadiuvare i sistemi endogeni di riparo del DNA.

L'attenzione è stata rivolta soprattutto a composti di origine naturale ricchi di polifenoli noti, anche nell'uomo, per la loro efficacia contro patologie cardiovascolari, respiratorie, neurodegenerative, infiammatorie e cutanee indotte dagli UV.

Il presente studio ha valutato l'efficacia protettiva di un composto sintetico, Timolo (componente principale dell'estratto di Timo, presente circa al 70%) nei confronti del danno causato dai raggi UVA e UVB. I sistemi cellulari utilizzati nel progetto sono rappresentati da due linee cellulari di cheratinociti umani non tumorali (NCTC 2544 ed HaCaT), con differente stadio differenziativo. Le dosi di irradiazione UVA (8-24 J/cm²) e UVB (0.016-0.72 J/cm²) sono state scelte in un range di esposizione reale. Entrambi i sistemi cellulari sono stati pretrattati per un'ora con Timolo (1 µg/mL), in terreno senza siero, e poi esposti ad irradiazione. Lo stato cellulare ossido-riduttivo è stato valutato mediante la quantificazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e della lipoperossidazione di membrana (LPO). L'aspetto genotossico è stato analizzato mediante l'utilizzo di diverse tecniche: comet test alcalino (rileva rotture a singolo, doppio filamento del DNA e sensibili agli alcali), immunomarcatura dell'istone H2AX fosforilato (γH2AX, detecta solo rotture al doppio filamento del DNA), test del micronucleo (identifica danni a cromosoma o fuso mitotico).

Infine, è stato studiato anche il processo apoptotico mediante il test dell'Annexina V. Le rilevazioni ossidative sono state eseguite immediatamente dopo la fine delle irradiazioni, quelle genotossiche ed apoptotiche 24 ore dopo le stesse. I risultati ottenuti nei diversi test hanno confermato il maggior potere ossidativo degli UVA rispetto al maggior potere genotossico diretto degli UVB. La linea cellulare NCTC 2544 rivela la sua maggiore sensibilità allo stress ossidativo, a causa del minor grado di differenziazione. L'effetto protettivo del Timolo è stato evidenziato, con differente efficacia, in ogni ambito testato: sicuramente più marcato nei confronti dello stress ossidativo causato dai raggi UVA, data la riduzione significativa sia dei livelli di ROS che di LPO; più debole, ma pur sempre evidente, anche nei confronti del danno al DNA e del processo apoptotico indotto dagli UVB.

I risultati ottenuti possono essere considerati come preliminari per ulteriori e future sperimentazioni volte a valutare i meccanismi implicati nel riparo del danno UV-indotto da parte del Timolo che potrebbe essere considerato come un buon candidato per il trattamento o la prevenzione di patologie cutanee causate dai raggi UV.