

## **PROFILO TOSSICOLOGICO DEL PLASMA NON TERMICO, UNA INNOVATIVA STRATEGIA ANTITUMORALE**

Turrini E.<sup>1</sup>, Stancampiano A.<sup>1</sup>, Simoncelli E.<sup>2</sup>, Laurita R., Catanzaro E.<sup>1</sup>, Calcabrini C.,<sup>1</sup> Gherardi M.<sup>1</sup>, Colombo V.<sup>1</sup>, Fimognari C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Dipartimento di scienze per la qualità della vita, Università di Bologna, Rimini, Italia*

<sup>2</sup> *Dipartimento di ingegneria industriale, Università di Bologna, Bologna, Italia*

Lo stress ossidativo rappresenta un meccanismo chiave coinvolto in svariati processi cellulari fisiologici, come la differenziazione e la proliferazione cellulare, e patologici. Infatti, al di sopra di certi livelli, le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono responsabili di effetti citotossici e citostatici [1]. Le cellule tumorali sono caratterizzate da livelli basali di stress ossidativo più elevati rispetto alle cellule non trasformate e questo le rende più vulnerabili ai chemioterapici che innalzano i livelli di ROS [2]. Il plasma è un gas ionizzato le cui applicazioni in ambito biomedico sono esponenzialmente aumentate nel momento in cui è stato possibile generare il plasma a temperature biocompatibili. Il plasma freddo è responsabile dell'incremento di stress ossidativo e nitrosativo nelle cellule e questo è ritenuto alla base della sua azione antitumorale [3], sebbene i meccanismi di interazione plasma-cellula non siano ancora del tutto chiariti.

Il presente lavoro si propone di valutare il profilo citotossico e genotossico del plasma freddo sulla linea cellulare T-linfoblastica Jurkat. Il plasma è stato generato mediante due differenti sorgenti: un dispositivo a scarica a barriera dielettrica nanopulsato (DBD) e un dispositivo jet a scarica a barriera dielettrica micropulsato (DBD jet). Entrambe le sorgenti hanno indotto un decremento della vitalità cellulare, con un aumento significativo della frazione di cellule apoptotiche, in seguito a 48 h dall'esposizione al plasma. La produzione di ROS e di specie reattive dell'azoto (RNS) ritenuta alla base degli effetti biologici del plasma, può indurre danno al DNA. Lo studio è, quindi, proseguito con valutazione del profilo genotossico del plasma mediante il test della fosforilazione degli istoni. Un incremento significativo della fosforilazione si è osservato per tutte le condizioni di trattamento testate e, in particolare, in seguito a tempi brevi (6 h), per entrambe le sorgenti analizzate. Per comprendere quanto del danno pre-mutazionale venga fissato nelle cellule, si è proceduto all'analisi della frequenza dei micronuclei, da cui emerge chiaramente l'effetto mutageno del plasma. Tenendo in considerazione l'eterogeneità del plasma generato a seconda della sorgente, esperimenti di mutagenesi sono pianificati anche per la sorgente DBD jet. Infine, sono stati condotti esperimenti di selettività, trattando con plasma freddo la controparte non trasformata delle cellule leucemiche, costituita da linfociti di donatori sani. Ciò che emerge è una maggiore citotossicità verso le cellule tumorali, rispetto alle cellule non trasformate. Questi risultati contribuiscono a definire il profilo farmaco-tossicologico del plasma, delineando il suo impatto cellulare e genetico in ambito oncologico.

Questo lavoro è supportato dal programma di finanziamento nazionale SIR 2014 del progetto (RBSI14DBMB) *“Non-thermal plasma as an innovative anticancer strategy: in vitro and ex vivo studies on leukemia models”*.

[1] R. B. Hamanaka and N. S. Chandel (2010). Trends Biochem Sci 35, 505–513.

[2] L. Raj, et al. (2011). Nature 475, 231–234.

[3] D. B. Graves (2014). *Plasma Process Polym* 11, 1120–1127.