

# Účinok plazmou aktivovaných kvapalín na ľudské rakovinové a normálne kožné bunky

|                      |  |
|----------------------|--|
| <b>Authors:</b>      | Dominika Sersenová <sup>1</sup> Helena Gbelcová <sup>2</sup> Vanda Repiská <sup>2</sup> Zdenko Machala <sup>1</sup><br><sup>1</sup> Oddelenie Fyziky životného prostredia, FMFI UK, Bratislava <sup>2</sup> Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, LF UK, Bratislava |
| <b>Year:</b>         | 2020   |
| <b>Section:</b>      | Biophysics, mathematical modeling, biostatistics   |
| <b>Abstract No.:</b> | 2051   |
| <b>ISBN:</b>         | 978-80-972360-6-9  |

Rozvoj technológií generovania plazmy umožnil objaviť jej potenciál využitia v medicíne a možného využitia pri terapii rakoviny. Najnovšie štúdie studenej ukázali, že priama aj nepriama aplikácia plazmy (napr. formou plazmou aktivovaných kvapalín) dokáže pri správne nastavených podmienkach indukovať apoptózu rakovinových buniek. Niektoré práce sa tiež venujú možnej selektivitě plazmy voči rakovinovým bunkám [1]. Avšak presné mechanizmy pôsobenia plazmy na bunky a tkanivá musia byť ešte objasnené.

Cieľom našej štúdie bolo preskúmať efekt plazmou aktivovaných kvapalín - plazmou aktivovaného bunkového média (PAM) a fosfátového tlmivého roztoku (pPBS) - na ľudské kožné bunky *in vitro*. Kvapaliny sme aktivovali prenosným plazmovým perom generujúcim pulzný streamerový korónový výboj v bežnom vzduchu pri atmosférickom tlaku. Sústredili sme sa na vplyv na epitelové melanómové bunky A375 a ľudské kožné fibroblasty. A375 bunky boli inkubované v DMEM médiu doplnenom 10 % fetálnym hovädzím sérom, HDFa bunky v médiu určenom na kultiváciu fibroblastov. Rovnaké média boli použité na aktiváciu plazmou.

Kolorimetrickými metódami sme v PBS stanovili koncentrácie niektorých reaktívnych častíc, ktoré sú zodpovedné za biologický účinok na bunky ( $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $O_3$ ). Účinok plazmou aktivovaných kvapalín na bunky sme hodnotili po 24 hodinách od pridania plazmou aktivovaných kvapalín ako zmenu bunkovej viability analyzovanej metabolickým MTT testom a pomocou kvalifikácie typu bunkovej smrti prietokovou cytometriou a farbením Muse kitom (Annexin V & Dead Cell Kit).

Pokles viability rakovinových A375 buniek sme zaznamenali po aplikácii PAM aj pPBS. Účinok sme dokázali regulovať dĺžkou času aktivácie a riedením plazmou aktivovaných kvapalín. V predchádzajúcej práci sme potvrdili, že znížená viabilita nie je spôsobená len zastavením bunkového cyklu [2], preto sme pokračovali stanovením typu bunkovej smrti. Apoptózu sme zaznamenali u viac ako 50 % buniek vo vzorke po aplikovaní PAM/pPBS, keď boli inkubované v 50 % alebo 100 % plazmou aktivovanej kvapaline. Nekróza buniek nebola pozorovaná. Viabilita HDFa buniek sa po aplikácii PAM významne nemenila. Avšak po aplikácii pPBS sme selektívny účinok videli v menšej miere len v prípade niektorých kombinácií časov aktivácie a riedenia.

V našej štúdii sme diagnostikovali niektoré významné RONS v plazmou aktivovanom PBS a ukázali schopnosť plazmou aktivovaných kvapalín indukovať apoptózu v rakovinových bunkách. Pri porovnaní s normálnymi bunkami sme v niektorých prípadoch zaznamenali selektívny účinok.

*Táto práca bola podporená Komenského univerzitou grantom UK/337/2020 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja grantom APVV-17-0382.*

[1] H. Tanaka et al., IEEE Transactions on Plasma Science, 42, 3760-3764 (2014).

[2] D. Sersenová et al., IWPCT, April 1-3, Antwerps, Belgium (2019).

