

Veränderungen der Membranpermeabilität von malignen Zellen nach Behandlung mit kaltem Atmosphärendruckplasma

Lehmeyer G, Nitsch A, Ekkernkamp A, Haralambiev L

Kaltes physikalisches Plasma

Kaltes physikalisches Atmosphärendruck-Plasma (CAP) entspricht einem hoch energetisierten Gas ($\leq 40^\circ\text{C}$) und setzt sich aus zahlreichen biologisch wirksamen Spezies zusammen (z.B. reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies). Hierbei werden die Eigenschaften von CAP genutzt, Tumorzellen auf unterschiedliche Art und Weise zu inaktivieren. Wesentliche Grundlage der CAP-Wirkung in diesem Kontext ist, dass die im Plasma befindlichen reaktiven Spezies zu spezifischen zellbiologischen Prozessen führen und mittels intrazellulärer Signaltransduktion komplexe und meist lang anhaltende Zellantworten induzieren. Solche Effekte konnten in vorausgegangenen Arbeiten an verschiedenen Zelllinien nachgewiesen werden.

Versuchsaufbau und Methode

Die Zellen werden geerntet und die Zellzahl bestimmt. In den bisher durchgeführten Versuchen wurde eine Konzentration von $1 \cdot 10^6$ Zellen/ml verwendet. Daraufhin werden die Zellen in das Well ausgesät und mit der gewünschten Zeit behandelt. Danach werden die Farbstoffe dazugeben und Inkubiert.

Die Messung erfolgt mit der Durchflusszytometrie (FACS).

Findung der Methoden wurden verschiedene Parameter verwendet.

- Positivkontrolle mittels Triton X100 (1%;0,3%)
- Negativkontrolle mittels Argon durchgeführt.
- Fluoresceinisothiocyanat-Dextrane mit einem Gewicht von 4, 20, 40 kDa
Fixierung mit Formaldehyd (4%)
- Konzentrationen der Farbstoffe 1,0; 0,01, 0,001 mg/ml,
- Behandlungszeiten mit CAP 5,10,20,30,60s
- Inkubationszeiten 0,5,10 Minuten
- Waschen der Zellen

Nach Auswertung der ersten Versuche werden folgende Parameter beibehalten:

- Negativkontrolle mit Argon, FD 4, Konzentrationen (0,1;0,01; 0,001 mg/ml),
Behandlungszeiten 10,30,60s, Inkubationszeit 0 Min

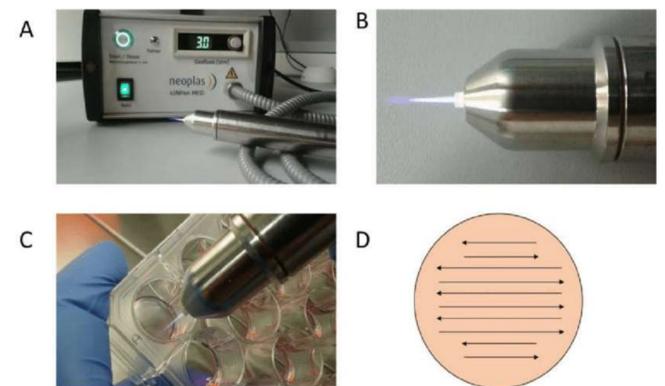
Hintergrund

Das Ziel der Arbeitsgruppe ist langfristig die Etablierung von CAP als Therapieoption verschiedener Sarkome. In der experimentellen Forschungsarbeit solle die Wirkung des kalten Atmosphärendruckplasmas in Hinblick auf die Permeabilität der Zellmembran für Stoffe verschiedener Größe charakterisiert werden. Hierfür wird die Plasma-Behandlung an verschiedenen Zelllinien durchgeführt werden.

Kontakt

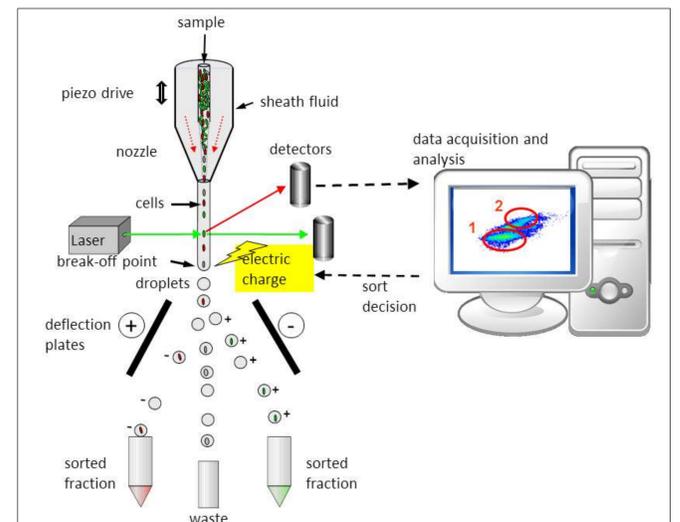
Dr. med. habil. Lyubomir Haralambiev

Klinik und Poliklinik für Unfall-, Wiederherstellungschirurgie und Rehabilitative Medizin
Tel.: 03834 86-22541
Email: lyubomir.haralambiev@med.uni-greifswald.de



Plasma Jet KINPen MED (neoplas tools, Greifswald, Germany): Sichtbare Flamme im aktivierten Modus(A,B) Behandlung der Zellkultur in 24 Well-Platte (C). Bewegung des Plasmastrahls über die Zellkultur (D).

© Haralambiev, et al., 2020, Cold Atmospheric Plasma Treatment of Chondrosarcoma Cells Affects Proliferation and Cell Membrane Permeability; Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 2291;



Prinzip der Durchflusszytometrie:

© B. Fuchs, Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, Prinzip der durchflusszytometrischen Analyse und Sortierung

Literatur

- Gümbel D, Gelbrich N, Weiss M, Napp M, Daeschlein G, Sckell A, Ender SA, Kramer A, Burchardt M, Ekkernkamp A, Stope MB (2016) New treatment options for osteosarcoma - inactivation of osteosarcoma cells by cold atmospheric plasma. *Anticancer Res* 36, pp. 5915-5922
- Gümbel D, Suchy B, Wien L, Gelbrich N, Napp M, Kramer A, Ekkernkamp A, Daeschlein G, Stope MB (2017) Comparison of cold atmospheric plasma devices' efficacy on osteosarcoma and fibroblastic in vitro cell models. *Anticancer Res* 37, pp. 5407-5414
- Bekeschus S, Wulf CP, Freund E, Koensgen D, Mustea A, Weltmann KD, Stope MB (2018) Plasma treatment of ovarian cancer cells mitigates their immunomodulatory products active on THP-1 monocytes. *Plasma* 1, pp. 201-217
- Daeschlein G, Hillmann A, Gümbel D, Sicher C, von Podewils S, Stope MB, Jünger M (2018) Enhanced anticancer efficacy by drug chemotherapy and cold atmospheric plasma against melanoma and glioblastoma cell lines in vitro. *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences* 2, pp. 153-159
- Haralambiev L, Wien L, Gelbrich N, Kramer A, Mustea A, Burchardt M, Ekkernkamp A, Stope MB, Gümbel D (2019) Effects of cold atmospheric plasma on the expression of chemokines, growth factors, TNF superfamily members, interleukins, and cytokines in human osteosarcoma cells. *Anticancer Res* 39, pp. 151-157