

RAPORT ȘTIINȚIFIC ETAPA II 2018

PN-III-P2-2.1-PED-2016-0904

Biotehnologie pentru demonstrarea potențialului anticanceros al nanoarhitecturilor de carbon încărcate cu medicament utilizând sferoizi tumorali multicelulari

BioNanoSpher

OBIECTIV GENERAL

- Multifuncționalizarea și particularizarea nanoarhitecturilor de carbon cu agenți chemoterapeutici și investigarea potențialului lor antitumoral pe modele 3D multicelulare.

Rezumatul etapei:

A doua etapă a proiectului a fost dedicată multifuncționalizării și particularizării nanoarhitecturilor de carbon cu agenți chemoterapeutici și investigării potențialului lor antitumoral pe modele 3D multicelulare. Multifuncționalizarea nanoarhitecturilor de carbon a fost realizată prin conjugarea nanoarhitecturilor de carbon cu medicamente pe baza de platină dar și cu alte tipuri de medicamente utilizate în domeniul oncologiei precum pemetrexedul (Pm) în combinație cu quercitina (Q), un flavonoid cu proprietăți antiioxidante, cu scopul de a reduce toxicitatea nanotuburilor de carbon utilizate la transportul medicamentului.

Validarea modelului experimental tridimensional (sferoizi tumorali multicelulari) s-a realizat prin cultivarea celulelor canceroase în prezența și în absența Matrigelului, dar și prin analize de viabilitate, proliferare și de hipoxie, ca principal proces întâlnit la nivelul sferoizilor tumorali. Studii preliminare în vederea indentificării combinației nanotuburi de carbon-medicamente care prezintă eficiență la nivelul modelelor tridimensionale canceroase s-au realizat pe culturi celulare în sistem bidimensional în prezența nanotuburilor de carbon cu un singur perete (SWCNTs) și pereți multipli (MWCNTs) conjugate cu cisplatin (CDDP) prin analize de viabilitate și morfologie.

Modelele celulare 3D multicelulare au fost generate din celule canceroase de sân MDA-MB-231 prin tehnica liquid-overlay, iar interacția dintre sferoizii tumorali și nanotuburile de carbon a fost studiată pentru două concentrații (1, 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ SWCNTs și 0.6, 2.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ CDDP) și două intervale de timp (24 și 48 h) prin analize de viabilitate (testul LIVE/DEAD), morfologie (microscopie optică), proliferare (PCNA), stres oxidativ (concentrația de glutation redus), dar și prin analiza markerilor de apoptoză (proteinele p53, Bax, Bcl-2), autofagie (Beclin-1, LC-3) și a unor căi principale de semnalizare: PI3K/Akt.NF-kB și Notch. De asemenea, aspecte ale invazivității au fost urmărite prin înglobarea sferoizilor în gel și cuantificarea expresiei metaloproteinazelor matriceale.

Rezultatele obținute pe sferoizii tumorali au indicat o eficiență anti-tumorală crescută a nanoarhitecturilor SWCNT încărcate cu CDDP comparativ cu proba de CDDP liber prin

creșterea numărului lizozomilor după 48 h de tratament cu o concentrație de 4 $\mu\text{g/mL}$, în corelație cu inhibarea proteinei fosfoinozitol 3-kinazei (PI3K) și creșterea expresiei proteinei catepsină B. De asemenea, a fost observată o inhibare a potențialului invaziv în prezența unei concentrații de 4 $\mu\text{g/mL}$ SWCNT-COOH-CDDP.

Rezultatele obținute au fost valorificate în 3 articole ISI, 1 capitol de carte, 7 lucrări prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale și o cerere de brevet.

Articole cotate ISI

- Ionita D, Ungureanu C, Prodana M, Negru AM, Enachescu M. Hybrid materials based on multi-walled carbon nanotubes with antimicrobial properties. *Revista de Chimie* 2018, 69(10), 2625-2632, factor de impact 1.412 (2017).
- Badea MA, Prodana M, Dinischiotu A, Crihana C, Ionita D, Balas M. Cisplatin loaded multiwalled carbon nanotubes induce resistance in triple negative breast cancer cells. *Pharmaceutics* 2018, 10(4), 228, doi:10.3390/pharmaceutics10040228, factor de impact 3.746 (2017).
- Badea MA, Balas M, Ionita D, Dinischiotu A. Influence of matrigel on single and multiple-spheroid cultures in breast cancer research. *SLAS Discovery* 2018, în revizie, factor de impact 2.355 (2017).

Capitol de carte

- Stan MS, Strugari AFG, Balas M, Nica CI. Chapter 2. Biomedical applications of carbon nanotubes with improved properties, in *Fullerens, Graphenes and Nanotubes: A Pharmaceutical Approach*, 1st ed. (Ed. AM Grumezescu), Elsevier, William Andrew, 2018, pp 31-65.

Rezumate publicate în cadrul unor conferințe naționale și internaționale

- Badea MA, Balas M, Dinischiotu A. Generarea de modele 3D pentru tumori de cancer de sân și caracterizarea lor biologică. Volum de rezumate, p. 11-12. Conferința Națională a Școlilor Doctorale din Consorțiul Universitaria, Editia I. 31 octombrie-3 noiembrie 2018, Iasi, Romania.
- Badea MA, Balas M, Tincu B, Ionita D, Dinischiotu A. Efficiency evaluation of oxidized carbon nanotubes loaded with cisplatin in the treatment of triple negative breast cancer. Volume of

summaries, P-06, p. XX. International Symposium Priorities of Chemistry for a Sustainable Development, a 14-a editie, Bucuresti, 10-12 octombrie 2018.

- Badea MA, Balas M, Dinischiotu A. Generation of 3D in vitro breast cancer models by different techniques and their biological characterization. FEBS Open Bio 8 (Suppl. S1), p. 182. The 43rd FEBS Congress, Praga, Cehia, 7-12 iulie 2018.
- Balas M, Badea MA, Ionita D, Demetrescu I, Dinischiotu A. Characterization of biological effects induced by functionalization of multi-walled carbon nanotubes in breast cancer 3D in vitro models. FEBS Open Bio 8 (Suppl. S1), p. 478. The 43rd FEBS Congress, Praga, Cehia, 7-12 iulie 2018.
- Stoian A, Ionita D, Oprescu SM, Ticu B, Balas M, Badea MA, Dinischiotu A. Application of multiwalled carbon nanotubes as drug carrier systems. Book of Abstract, P0949, Carbon 2018, Madrid, Spania, 1-6 iulie 2018.
- Prodana M, Enachescu M, Radavoi GD, Balas M, Badea MA, Dinischiotu A, Gavan C. Functionalization of carbon nanotubes with drugs in order to increase the biocompatibility. Book of Abstract, P0948, Carbon 2018, Madrid, Spania, 1-6 iulie 2018.
- Badea MA, Balas M, Dinischiotu A. Generarea de modele 3D pentru tumori de cancer de san prin doua tehnici si caracterizarea lor biologica. Volum de rezumate, p. 42. Sesiunea de comunicari stiintifice a studentilor Facultatii de Biologie, 19 mai 2018.

Cerere de brevet

- Daniela I, Prodana M, Badea N, Dinischiotu A, Balas M. Sisteme pe baza de nanotuburi de carbon utilizate in terapia cancerului. Numar cerere brevet național A/00919 din data de 21.11.2018.