

Etapa a III-a. Demonstrarea la nivel de laborator a funcționalității sistemelor irinotecan-nanoplatformă

Rezumat

Obiectivele acestei etape au fost: (i) optimizarea nanoplatformei silice-fucoidan funcționalizată pentru irinotecan; (ii) verificarea reproductibilității caracteristicilor nanoplatformelor și a compoziției optime; (iii) evaluarea efectului anticancerigen a nanoplatformelor obținute cu sau fără irinotecan pentru celulele de adenom de colon, CaCo2, respectiv citotoxicitatea acestora pentru celule sănătoase; (iv) localizarea nanoplatformelor de tip silice mezoporoasă-fucoidan optimizate la nivel intra/extracelular; (v) determinarea efectului sinergic anticancerigen dintre fucoidan și irinotecan și a funcționalității sistemului irinotecan-silice mezoporoasă funcționalizată-fucoidan la nivel de laborator (TRL4).

În această etapă a proiectului s-au dezvoltat nanoplatforme de tip silice funcționalizată cu glicină – fucoidan, cu o cantitate mai mare de polizaharidă care a condus la rezultate foarte bune atât în privința efectului anticancerigen sinergic. Prezența fucoidanului în nanoplatforme determină o cinetică de eliberare mai lentă a irinotecanului în mediu acid (PBS pH=5.5) ce simulează mediul tumoral. Evaluarea citotoxicității la nivel celular pe fibroblaste HS27 și pe linia celulară tumorală de colon CaCo2 a sistemelor de tip irinotecan-silice -fucoidan în doze de tratament de 50-250 μg/mL a arătat un efect citotoxic mai redus pe celulele sănătoase decât a agentului citostatic ca atare, în timp ce pe linia tumorală s-a observat un efect sinergic anticancerigen între irinotecan și fucoidan, în special după 72 h de incubare.

Pentru a stabili gradul de internalizare a nanoplatformelor de tip silice-fucoidan în cazul celulelor tumorale CaCo2 și fibroblaste HS27, s-au folosit atât imagini obținute prin tehnica hiperspectrală, cât și imagini obținute prin scanare în fluorescență. Internalizarea NP de silice funcționalizată se face la nivelul citoplasmei, pentru nanoplatformele silice-fucoidan s-au observat aglomerări atașate de citoplasma celulelor, numărul NP identificate în interiorul celulelor fiind mai mic în cazul celor ce nu au fost acoperite cu fucoidan. Prin activitățile din cadrul acestui proiect s-a introdus o metodă completă pentru înregistrarea imaginilor și prelucrarea acestora în cazul culturilor de celule incubate cu NP de silice funcționalizată, cu scopul de a stabili gradul de internalizare a acestora.

S-a elaborat o tehnologie nouă de obținere a unor nanoplatforme de tip silice funcționalizată cu resturi de glicină acoperite cu fucoidan într-o concentrație mai mare de circa 33%, iar sistemul irinotecan-silice funcționalizată cu glicină-fucoidan dezvoltat a prezentat un efect anticancerigen sinergic pe linia celulară de adenom de colon CaCo2.

Prin urmare s-a demonstrat funcționalitate sistemului propus irinotecan-fucoidan-silice funcționalizată cu resturi de glicină, cu un conținut de fucoidan de circa 33% la nivel de laborator, sistem inovator, atingându-se nivelul de maturitate TRL4.

Prin urmare, prin derularea activităților din această etapă, au fost *atinse toate obiectivele propuse, s-au îndeplinit și depășit toți indicatorii de realizare*, iar *valoarea rezultatelor obținute este susținută de activitatea de diseminare*, fiind publicate 2 articole în reviste ISI (Nanoscale-FI=8.307 și Materials-FI=3.748) cu factor de impact ridicat și s-au prezentat 3 lucrări la conferințe internaționale și una la o conferință națională cu participare internațională.