Romanian version below

Brief presentation of the results obtained within the TE159/2022 project

The invention refers to an innovative and original process for obtaining transport systems for peptides with anticancer efficiency (ACP). The procedure consists of the following steps: 1) obtaining nanoparticles with or without the peptide, spherical in shape and with an average diameter of 70 nm, through the precipitation protocol either with ammonia or with APTES; 2) morphological characterization of the systems obtained under controlled conditions 3) determination of the cytotoxic effect produced by the systems obtained on healthy mammalian cells; 4) investigating the antitumor effect and determining the therapeutic index; 5) investigating the effect produced at the level of lipid membranes and proposing a mechanism of action. The systems thus obtained show a toxicity for fibroblast cells at concentrations higher than 12.5 µM, while the antitumor effects are also observed at lower concentrations, the therapeutic index being unitary or slightly increased. The effect at the membrane level suggests that in a first stage, the NP enters the cell membrane, inducing a stiffening of it, if we have NPs loaded with the peptide, or finally leading to the fluidization of it if we have simple NPs. This is correlated with the higher degree of toxicity for single NPs, which indicates a lysis of cell membranes and thus a possible necrotic death, unlike NPs with peptide that accumulate in the membrane without lysis. The result indicates that the observed cell death may be due to further internalization of the peptide.

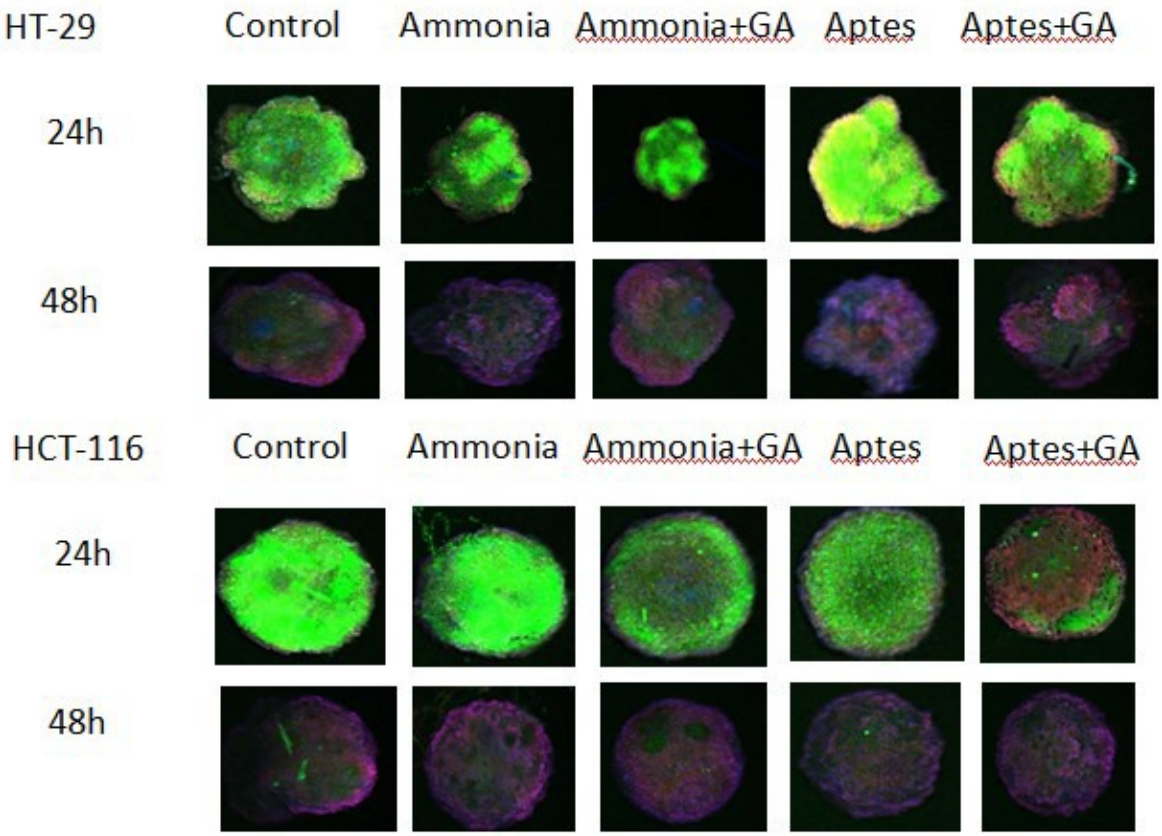

Figure 1. Representative images for spheroids obtained from HT-29 and HCT-116 cells and treated for 24 and 48h with the 4 types of NP. In green the reactive oxygen species, in blue the nuclei and in red

the nuclei of dead cells, their overlap indicating a magenta color for dead cells due to damage to the cell membrane

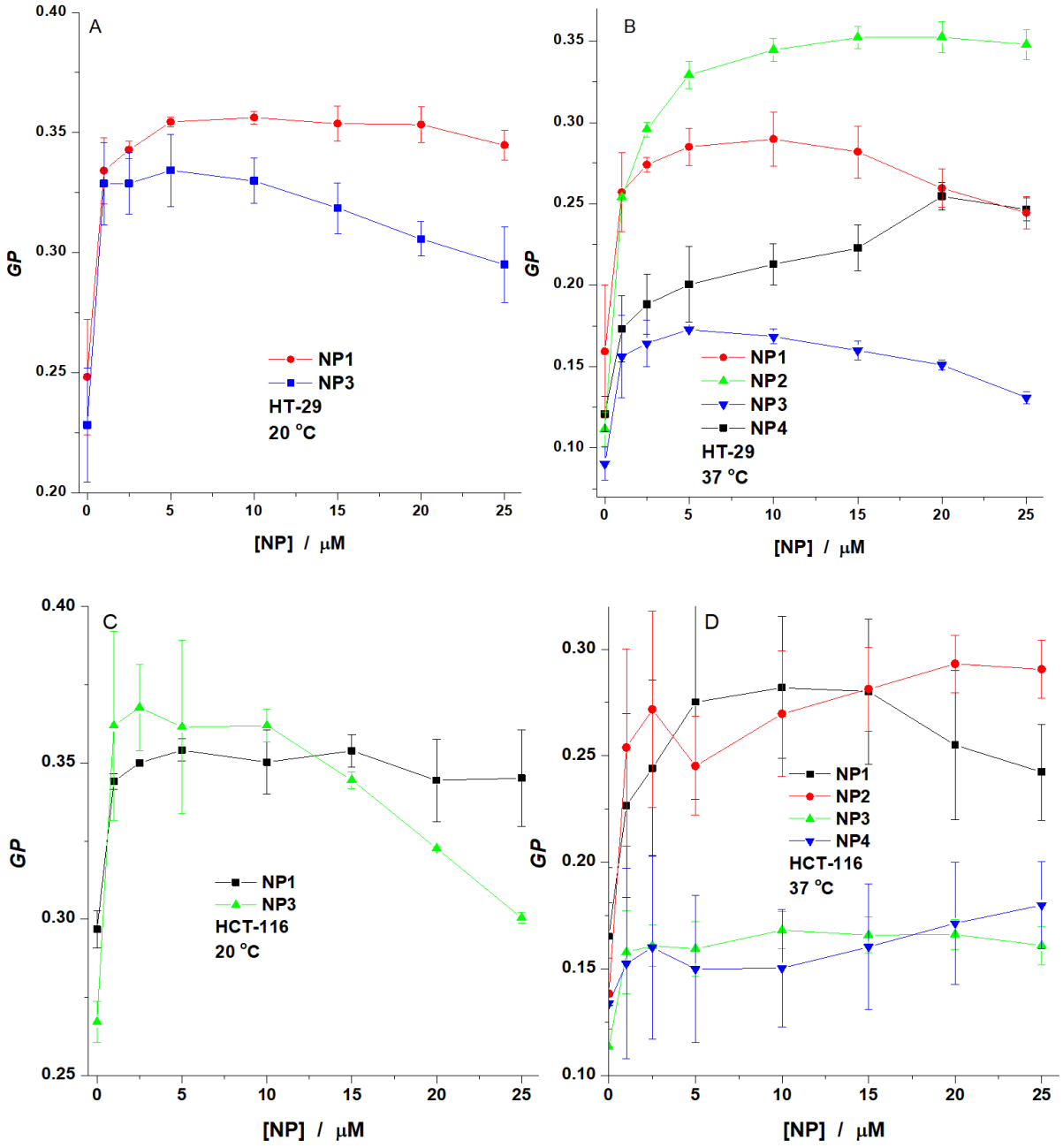

Figure 2. Variation of the GP parameter calculated for HT-29 and HCT-116 cells recorded at 2 temperatures (20 and 37 oC) after the application of increasing concentrations of NP: NP1 – precipitated with ammonia, NP2 – loaded with GA and precipitated with ammonia, NP3 – precipitated with APTES, NP4 – loaded with GA and precipitated with APTES. The results indicate that simple NPs produce a different effect compared to those loaded with the peptide

Prezentare succintă a rezultatelor obținute în cadrul proiectului TE159/2022

Invenția se referă la un proces inovativ și original de obținere a unor sisteme de transport pentru peptide cu eficiență anticancerigenă (ACP). Procedeul constă în următoarele etape: 1) obținerea nanoparticulelor cu sau fără peptida, de formă sferică și de diametru mediu de 70 nm, prin protocolul de precipitare fie cu amoniac fie cu APTES; 2) caracterizarea morfologică a sistemelor obținute în condiții controlateș 3) determinarea efectului citotoxic produs de sistemele obținut asupra celulelor sănatoase de mamifer; 4) investigarea efectului antitumorl și determinarea indicelului terapeutic; 5) investigarea efectului produs la nivelul membranelor lipidice si propunerea unui mecanism de actiune. Sistemele astfel obţinut prezintă o toxicitate pentru celulele de fibroblaste la concentrații mai mari de 12.5 µM, pe cand efectele antitumorale sunt observate și la concentrații mai mici, indicele terapeutic fiind unitar sau usor crescut. Efectul la nivel membranar sugereaza ca intr-o primă etapă, NP intră în membrana celulară inducand o rigidizarea a acesteia, daca avem NP incarcate cu peptida sau ducand in final la fluidizarea accesteia daca avem NP simple. Acest lucru este corelat cu gradul de toxicitate mai mare pentru NP simple, ceea ce indica o lizare a membranelor celulare si astfel o posibila moarte necrotica, spre deosebire de NP cu peptida care se acumuleaza in membrana fara a o liza. Rezultatul indica faptul ca moartea celulara observata se poate datora unor internalizari ulterioare ale peptidei.

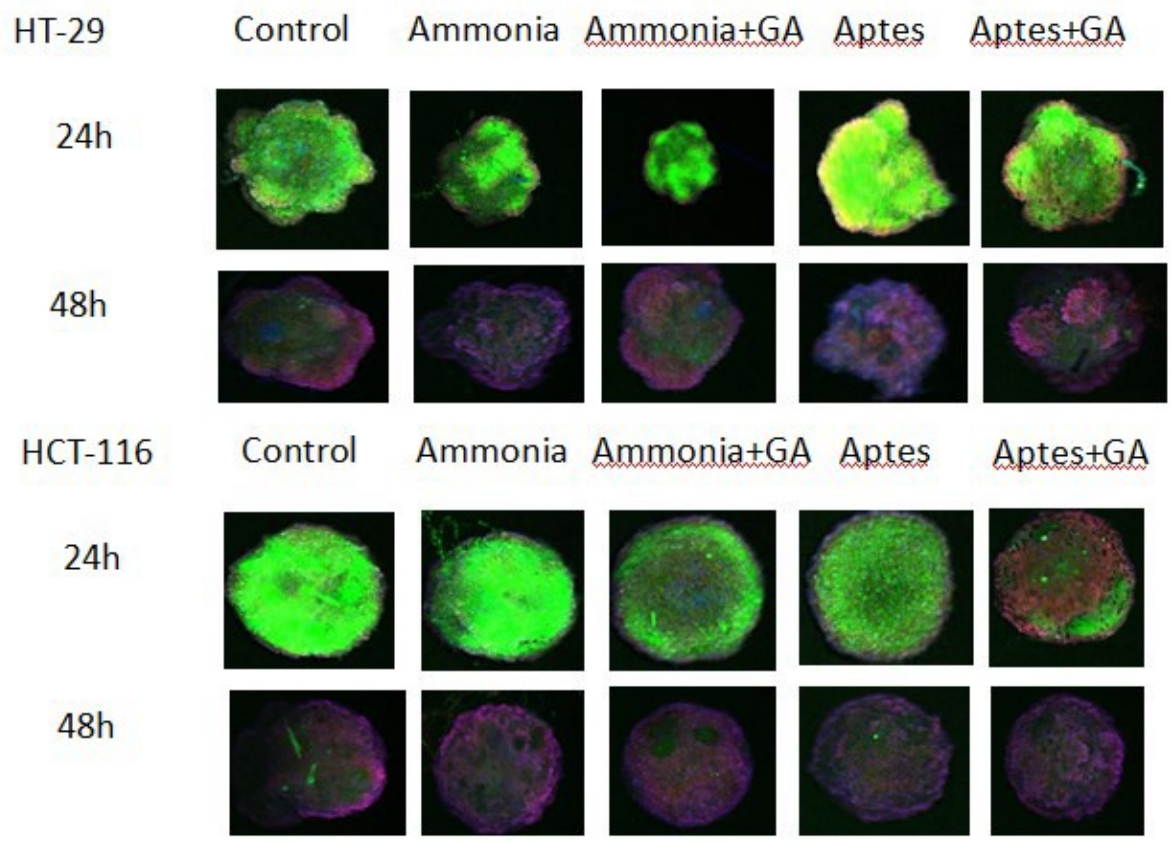

Figura 1. Imagini reprezentative pentru sferoizii obtinuti din celule de HT-29 si HCT-116 si tratati pentru 24 si 48h cu cele 4 tipuri de NP. In verde speciile reactive de oxigen, in albatru nuceleele si in rosu nucleele celulelor moarte, suprapunerea lor indicand o culoare magenta pentru celulele moarte prin lezarea memranei celulare

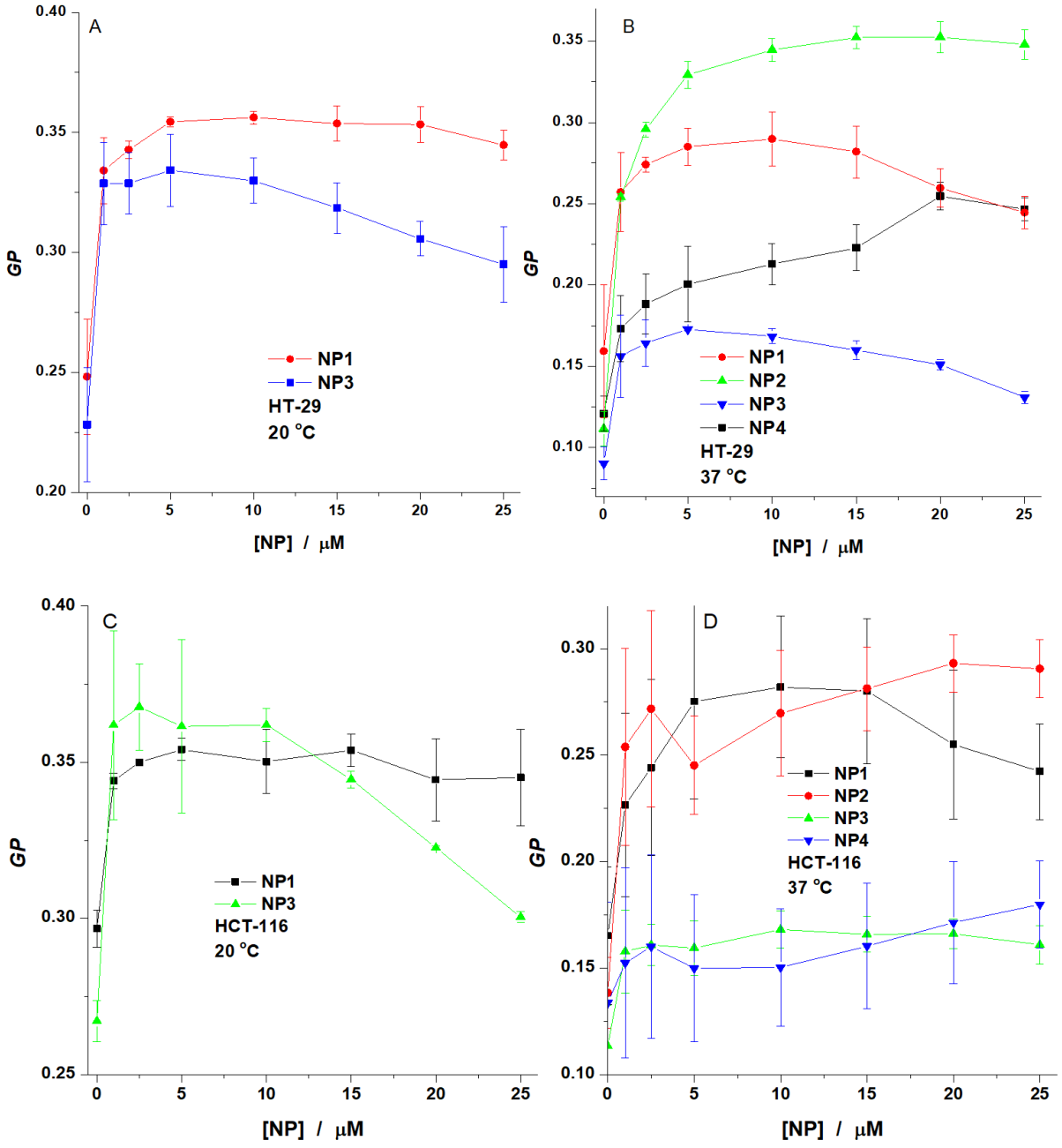

Figura 2. Variatia parametrului GP calculat pentru celulele HT-29 si HCT-116 inregistrate la 2 temperaturi (20 si 37 oC) dupa aplicarea concentratiilor crescatoare de NP: NP1 – precipitate cu amoniac, NP2 – incarcate cu GA si precipitate cu amoniac, NP3 – precipitate cu APTES, NP4 – incarcate cu GA si precipitate cu APTES. Rezultatele indica faptul ca NP simple produc un efect diferit comparativ cu cele incarcate cu peptida