

Etapele I și II (23.11.2020 – 31.12.2021)

Scopul acestor două etape a fost de a pune în evidență modificările aduse celulelor SW 1353 de condrosarcom, în urma tratamentului cu IONP și/ sau radiație ionizantă de diferite tipuri și energii. S-au pus în evidență modificări morfologice, structurale, ale viabilității, supraviețuirii, integrității materialului genetic în celulele de condrosarcom, după acest tratament. Astfel s-au realizat următoarele:

- (1) s-a sintetizat un nou lot de IONP și s-au caracterizat prin analiza hiperspectrală;
- (2) investigații folosind diferite tehnici de microscopie (optică, în fluorescență, în câmp întunecat, electronică) pentru stabilirea modelului de internalizare în culturi 2D și 3D, în absența/ prezența radiației ionizante;
- (3) screeningul citotoxicității și genotoxicității IONP în absența radiației ionizante, care a rezultat în stabilirea unei concentrații optime pentru studiile de radiosensibilizare;
- (4) screening complet al supraviețuirii și al genotoxicității IONP în prezența radiației ionizate de diferite tipuri și energii;
- (5) s-au colectat probe pentru investigații ale expresiei unor proteine prin analiza Western Blot;
- (6) s-au optimizat tehnicile de caracterizare proteomică și metabolomică a celulelor de condrosarcom.

În cadrul acestor etape au fost realizate toate activitățile propuse și au fost atinse obiectivele avute în vedere. De asemenea, toți indicatorii de realizare asumați au fost realizați.

Etapa 3/2022 (01.01.2022-23.10.2022)

Obiectivul general al etapei 3 a presupus elaborarea și dezvoltarea tehnologiei in vitro preclinice. În vederea îndeplinirii obiectivului am desfășurat următoarele activități:

- (i) Investigarea proceselor de semnalizare a leziunilor ADN și a rolului mitocondriilor în radiorezistența celulelor tumorale
- (ii) Analiza profilului "multi-omic" al celulelor tumorale tratate cu nanoparticule și radiații ionizante
- (iii) Analiza celule expuse terapiei combinate în condițiile stabilite ca fiind optime; Analiza profilelor hiperspectrale și a internalizării 3D pentru celule expuse terapiei combinate la valorile optime de concentrație și iradiere.
- (iv) Analiza răspunsurilor biologice obținute în celulele tumorale tratate cu nanoparticule și diferitele tipuri de radiații (fotoni și hadroni)
- (v) Elaborarea documentelor tehnice pentru tehnologia in vitro preclinică; formularea tehnologiei

În cadrul proiectului DONANORAD s-a obținut un volum consistent de rezultate dintre care cele mai importante sunt următoarele: (i) S-a demonstrat că nanoparticulele core-shell pe baza de oxid de fier, conjugate cu polietilen glicol, ce încapsulează substanța chimioterapeutică doxorubicina (IONP_{DOX}) se internalizează la nivel citoplasmatic, peri-nuclear în celulele

tumorale de condrosarcom expuse nanoparticulelor in absenta sau prezenta de iradiere (Figurile 1 si 2); (ii) Nanoparticulele nou sintetizate au efect radiosensibilizator, de amplificare a efectului radiatiilor in celulele tumorale de condrosarcom in urmatoarele cazuri: iradiere cu protoni cu energie mica (19 MeV) (Figura 3); iradiere cu protoni cu energie mare (hadroni-155 MeV) (figura 4); iradiere cu ioni de carbon (hadroni-95MeV); Acest lucru demonstreaza potentialul nanoparticulelor nou sintetizate de grupul nostru de a intensifica efectul citotoxic al iradierilor cu protoni si ioni de carbon asupra tumorilor. Ca urmare, **IONP_{DOX} pot fi considerate candidati promitatori pentru imbunatatirea hadron terapiei tumorilor radiorezistente atat cu protoni cat si cu ioni de carbon.**

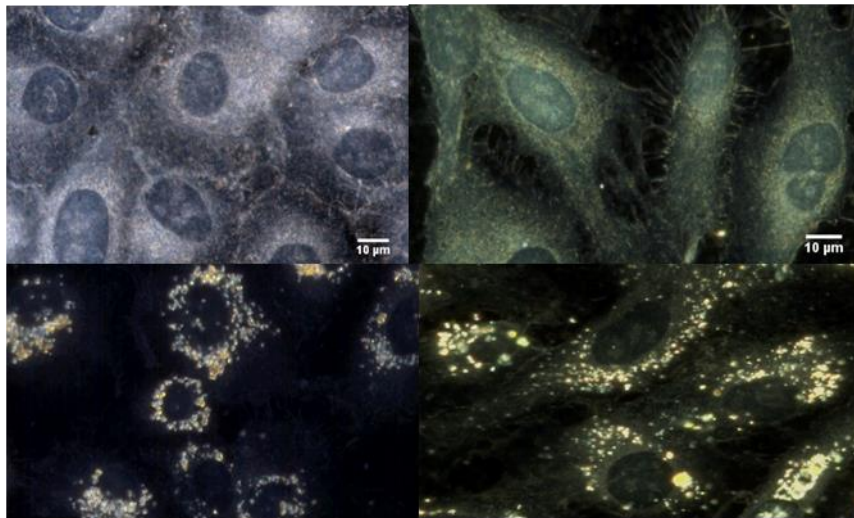


Figura 1. Internalizare IONP_{DOX} in celulele tumorale de condrosarcom SW1353: (stanga sus) celule control netratat; (dreapta sus) celule iradiate cu protoni 4Gy; (stanga jos) celule tratate cu IONP_{DOX}; (dreapta jos) celule tratate cu IONP_{DOX} si protoni 4Gy; imagini de microscopie hiperspectrala in camp intunecat.

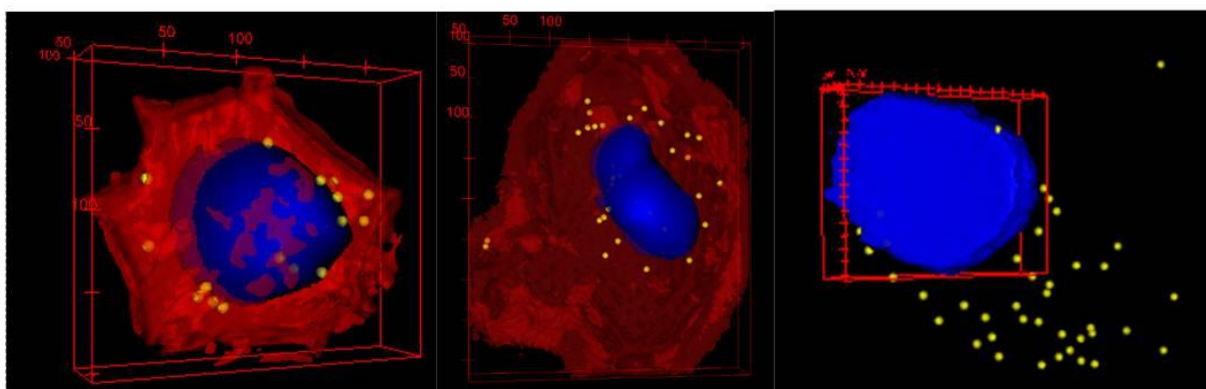


Figura 2. Internalizarea IONP_{DOX} in celulele tumorale de condrosarcom SW1353: (stanga si centru) reprezentare IONP_{DOX} in nucleu si citoplasma, colorare nucleu cu DAPI (albastru), colorare citoplasma cu Texas-Red (rosu), culoare din soft IONP_{DOX} (galben); (dreapta) reprezentare IONP_{DOX} in nucleu, colorare nucleu cu DAPI (albastru), culoare din soft IONP_{DOX} (galben); imagini de reconstructii 3D inregistrate prin filtre de fluorescenta.

SW1353

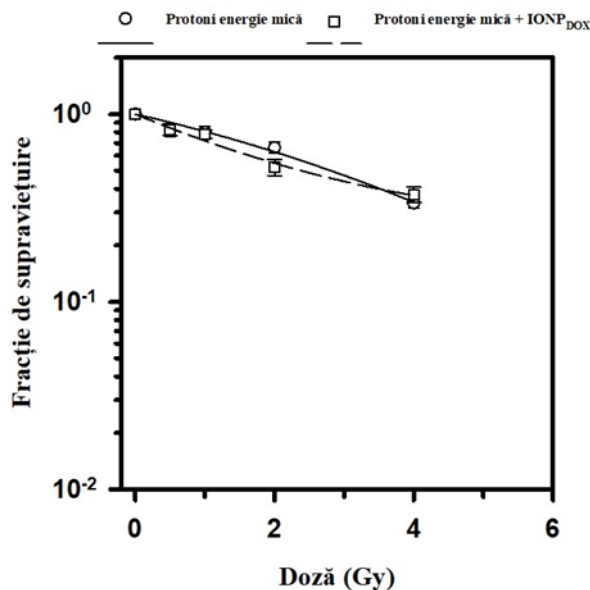


Figura 3. Fracțiile de supraviețuire (FS) a celulelor de condrosarcom iradiate cu protoni cu energie mică (19 MeV) și expuse 16h la 200 μg/mL IONP_{DOX} apoi iradiate cu protoni. Datele sunt prezentate ca valoare medie ± SEM (n=3); FS protoni vs FS IONP_{DOX} + Protoni: p=0.023 la 2Gy

SW1353

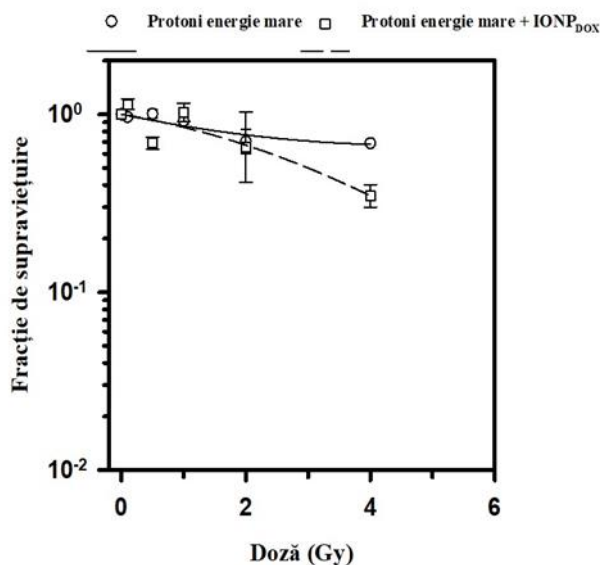


Figura 4. Fracțiile de supraviețuire (FS) a celulelor de condrosarcom iradiate cu protoni cu energie mare (hadroni-155 MeV) și expuse 16h la 200 μg/mL IONP_{DOX} apoi iradiate cu protoni. Datele sunt prezentate ca valoare medie ± SEM (n=3); FS protoni vs FS IONP_{DOX} + Protoni: p=0.024 la 4Gy