

### **Etapa III. Testarea toxicologica a nanomaterialelor fabricate *in vitro***

*Activitatea III.1 Analiza morfologică a citoscheletului de F-actină*

*Activitatea III.2 Analiza expresiei proteinelor zona ocludens (ZO-1) și occludin*

*Activitatea III.3 Testul activarii complementului*

*Activitatea III.4 Analiza nivelului caspazei-1 și a citokinelor proinflamatoare (IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-2, IL-6, IL-8 și TNF- $\alpha$ )*

*Activitatea III.5 Analiza enzimatică și a expresiei proteice a metaloproteinazelor MMP-2 și MMP-9*

*Activitatea III.6 Analiza statistică a datelor și interpretarea rezultatelor*

*Activitatea III.7 Diseminarea rezultatelor*

### **Rezumatul fazei 2017**

În cadrul acestui studiu a fost utilizată linia celulară de fibroblaste pulmonare umane MRC-5, care a fost menținută la 37°C în atmosferă de 5% CO<sub>2</sub> și cultivată în mediul de cultură *Minimum Essential Medium* (MEM) cu 10% ser fetal bovin. În vederea evaluării analizelor toxicologice la nivelul fibroblastelor pulmonare umane, celulele au fost expuse la nanoparticule de SiO<sub>2</sub> (NPs de SiO<sub>2</sub>) cu concentrația de 62.5  $\mu$ g/mL. După 24, 48, și 72 ore de incubare cu nanoparticule, mediul a fost colectat, celulele au fost spălate cu tampon fosfat salin (PBS) și prelucrate corespunzător pentru fiecare test evaluat. Studiul de față include modificări morfologice induse de internalizarea NPs de SiO<sub>2</sub>, evaluarea markerilor jonctiunilor stranse, evaluarea principalilor markeri inflamatori și ale proteinelor implicate în remodelarea matrixului extracelular, precum și analiza activității totale a complementului la nivelul liniei MRC-5 după intervale de 24, 48 și 72 de ore. Evaluarea citokinelor proinflamatoare (IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-18 și TNF- $\alpha$ ), evaluarea proteinelor implicate în remodelarea matrixului extracelular (MMP-2, MMP-9) și expresia proteinelor zona ocludens ZO-1, occludin și claudin-5 au fost analizate prin tehnica Western Blot folosind kitul „Western Breeze Chromogenic Kit” de la Invitrogen. Activitatea caspazei-1 a fost determinată colorimetric conform instrucțiunilor date de producător (AbNova), în timp ce activitatea totală a căii complementului a fost analizată folosind kitul MicroVue CH<sub>50</sub> Eq EIA. Rezultatele obținute în cadrul acestui studiu au arătat că nanoparticulele de silice induc un efect inflamator asupra liniei celulare MRC-5, fapt demonstrat prin rezultatele prezentate. Datele obținute au fost prelucrate și diseminate prin prezentarea a 5 rezumate la conferințe internaționale

si submiterea unui articol in jurnalul *Scientific Reports*. În concluzie, s-au realizat în totalitate activitățile asociate Etapei III din planul de activitate al proiectului: AIII.1, AIII.2, AIII.3, AIII.4, AIII.5, AIII.6, AIII.7.

### **Rezumate publicate la conferinte internationale sub forma de poster**

- S. N. Voicu, A. Dinischiotu, *In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung fibroblasts*, The FEBS Journal 284 (Suppl. 1), 104–392 DOI: 10.1111/febs.14174, Ierusalem, Israel, 10-14 septembrie, 2017.
- S. N. Voicu, M. Balas, A. Dinischiotu, *Investigation of toxicity mechanisms induced by silica nanoparticles in pulmonary cells*, Abstracts / Toxicology Letters 280S (2017) S82–S91, ISSN 0378-4274 XXX, Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) Bratislava, Slovacia, 10–13 Septembrie, 2017.
- M. Balas, A. Dinischiotu, *Toxic effects of silica nanoparticles on human pulmonary cell metabolism*, Abstracts / Toxicology Letters 280S, S180–S190, ISSN 0378-4274 XXX, Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) Bratislava, Slovacia, 10–13 Septembrie, 2017.
- M. Balas., A. Ruse., A. Dinischiotu. *Influence of silica nanoparticles on human pulmonary cell metabolism*. Poster Abstract 033, p. 31. EuroNanoForum 2017, Valetta, Malta, June 21-23,2017,<http://euronanoforum2017.eu/poster-abstracts>.
- A. Dinischiotu, S. N. Voicu, M. Costache, *Silica nanoparticles induces inflammation in MRC-5 human lung fibroblasts*, SCIENTIFIC CONFERENCE SGEM Vienna GREEN 2017, 27 – 30 Noiembrie, Vienna , Austria.

### **Articol** submis in revista *Scientific Reports*

- M. S. Stan, L. O. Cinteza, L. Petrescu, M. A. Mernea, O. Calborean, D. F. Mihailescu, C. Sima and A. Dinischiotu., *Dynamic analysis of the interaction between Si/SiO<sub>2</sub> quantum dots and biomolecules for improving applications based on nanobio interfaces” Scientific Reports reference number: SREP-17-51303.*