

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
"IULIU HAȚIEGANU" CLUJ-NAPOCA  
ȘCOALA DOCTORALĂ**

# **TEZA DE ABILITARE**

---

## **Aplicatii biomedicale ale nanomaterialelor**

**Rezumatul activității postdoctorale și planul de dezvoltare academică**

**Șef de lucrări Dr. Mocan Lucian Constantin**

---

**Cluj-Napoca**

**2016**

**Rezumatul activității de cercetare**

Dr. Mocan Lucian este Sef de Lucrari în cadrul departamentului de Chirurgie Generală (Chirurgie Oncologică Digestivă) al Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca. Pe lângă studiile clinice în domeniul chirurgiei oncologice digestive din ultimii ani, cercetările Dr. Mocan s-au concentrat, de asemenea, asupra domeniului nanotehnologiei, cercetării nanobiomedicale, nanotoxicologiei, vizualizării și tratării cancerului prin funcționalizarea nanomaterialelor, cu precădere asupra ablației laser selective și deteriorării optice a celulelor canceroase pancreatice și hepatice prin folosirea nanoparticulelor funcționalizate cu anticorpi. Deși au existat eforturi semnificative de cercetare a terapiilor orientate strict spre celulele tumorale, procesul nu este încă foarte bine controlat și înțeles. Contribuțiile originale ale Dr. Mocan au fost reprezentate de dezvoltarea unei noi metode de tratament fototermic al carcinomului hepatocelular uman, bazată pe un sistem de transport simplu al nanotuburilor de carbon cu pereți multipli (MWCNT) funcționalizate cu albumină serică umană (HSA). Lucrarea a fost publicată în revista Societății Americane de Nanomedicină – International Journal of Nanomedicine. Aceasta tehnica a fost ulterior îmbunătățită prin implementarea nanoparticulelor de aur non-toxice funcționalizate cu Albumina iar lucrarea științifică elaborată a fost acceptată în prezent spre publicare în Biomaterials (Factor de impact 8.4).

Într-un proiect separat, menit să testeze valoarea terapeutică a acestor nanobioconjugate, Dr. Iancu și echipa sa au dezvoltat o platformă experimentală ex vivo originală de cancer pancreatic uman. A fost conceput un nou protocol cu privire la transplantul de pancreas. Specimenele rezecate chirurgical de la pacienții cu cancer pancreatic (CP) au fost conservate într-un mediu rece și perfuzate intra-arterial. În pasul următor, nanotuburile de carbon funcționalizate cu albumină umană au fost administrate intra-arterial în artera pancreatică mare sub ghidaj ultrasonografic. Microscopia electronică de transmisie și microscopia confocală au confirmat acumularea selectivă a HSA-MWCNTs în interiorul țesutului pancreatic canceros uman. Iradierea laser externă a specimenului, după administrarea intra-arterială a HSA-MWCNTs a produs necroza extensivă a țesutului malign, fără efecte nocive asupra parenchimului sănătos înconjurător. Această abordare terapeutică nouă a fost recent publicată în International Journal of Nanomedicine (2) (pe locul al doilea ca factor de impact în domeniul Nanomedicinei) și a fost prezentată oral la A 4-a Conferință Europeană de Nanomedicină, 15-23 mai, Basel. ([www.nmn.ro](http://www.nmn.ro) - secțiunea publicații). Rolul crucial pe care nanotehnologiile l-ar putea juca în dezvoltarea terapiilor pe bază de celule stem a fost evidențiat într-o recenzie publicată în jurnalul Taylor&Francis Group, Tehnologia și știința particulelor (3). În colaborare cu Departamentul de Nanotehnologie al Universității din Arkansas, SUA (UALR), s-a demonstrat, pentru prima dată, activitatea antitumorală intensă a combinației de etoposid și nanotuburi de carbon împotriva celulelor canceroase. (Lucrarea a fost publicată în revista Elsevier – Nanomedicine, clasată pe primul loc în domeniul Nanomedicinei) Într-un alt proiect de colaborare cu cercetătorii de la UALR, s-a arătat că celulele HeLa absorb nanomaterialele într-un timp relativ scurt, proces care a afectat în mod semnificativ forma și dimensiunea celulelor (manuscrisul a fost publicat în Journal of Applied Toxicology - Wiley)

Într-o lucrare publicată în decembrie 2013 în Expert Opinion on Therapeutic Targets Expert Opin Ther Targets. 2013 Dec;17(12):1383-93 (factor de impact 4.9) am demonstrat că celulele maligne expuse la aceste nanoparticule de aur fotoexcitate induce o creștere a tranziției permeabilității mitocondriale (MPT), rezultând disiparea imediată a potențialului

membranal mitocondrial, inducerea osmotică a morții celulare și a celulei (apoptoza). Analiza cantitativă proteomică efectuată la Departamentul de Nanomedicină a arătat că pre-terapia GNP conduce la inactivarea proteinelor Bcl-2 anti-apoptotice prin interacțiunea directă proteină-proteină cu domeniul BH3, rezultând o scădere a potențialului transmembranal mitocondrial (MTP), urmată de inițierea apoptozei. Am observat, de asemenea, un fenomen de reglare a factorului 5b COX în urma tratamentului cu nanoparticule de aur fotoexcitate.

Într-o altă lucrare publicată în 2014 în Journal of Cancer (J Cancer. 05 septembrie 2014, 5 (8): 679-88) raportăm constructul unui nanobiosistem bazat pe nanotuburi de carbon cu pereți multipli și molecule de polietilen glicol (PEG) validate prin AFM, UV-Vis și DLS. În continuare am studiat efectul fototermic al acestor nanotuburi de carbon cu pereți multipli cu polietilen glicol (5, 10 și 50 pg / ml, respectiv) asupra celulelor pancreatice canceroase (PANC-1) și am analizat evenimentele moleculare și celulare implicate în apariția morții celulare. Folosind proliferarea celulelor, apoptoza, polarizarea membranei și teste de stres oxidativ pentru ELISA, microscopie fluorescență și citometrie de flux, am demonstrat că hipertermia survenită după tratamentul cu laser cu nanotuburi de carbon cu pereți multipli cu polietilen glicol (808 nm, 2W) conduce la depolarizarea membranei mitocondriale, care activează fluxul de radicali liberi în celulă și starea oxidativă reduce daunele celulare în celule CP pe cale apoptotică. Rezultatele noastre sunt de o importanță decisivă în special în ceea ce privește dezvoltarea de noi nanobiosisteme capabile să vizeze mitocondriile și să acționeze sinergic ca și medicament citotoxic și agenți activi termici.

În paralel Dr. Mocan și colaboratorii au propus și au dezvoltat un concept nou de nanofototermoliza selectivă mediata a bacteriilor rezistente la antibiotic. Lucrările rezultate din aceste experimente au fost publicate de Dr. Mocan în jurnale importante din domeniu. (

În perioada 2009-2016 au fost publicate în calitate de autor sau coautor (Dr. Mocan Lucian) 67 de articole originale (însușind 563 de citări) în reviste de specialitate din care 43 (însușind 346 citări ISI) în jurnale cotate Thomson Reuters (cu factor de impact 0-7.26 cu un număr cumulativ de 82.4 puncte ISI). Importanța științifică a lucrărilor publicate în această perioadă este reflectată de un indice Hirsch 13 și un indice I10 de 17 (conform <https://scholar.google.ro/citations?user=28Q764UAAAAJ>).

În perioada 2011-2015 în calitate de director de proiect/responsabil științific Dr. Mocan a câștigat și contractat în calitate de director sau responsabil științific 4 granturi de cercetare naționale. De asemenea a participat ca și membru activ în echipa de cercetare în alte 11 granturi de tip PN și a contribuit direct la elaborarea și redactarea a 7 proiecte de cercetare câștigătoare în domeniul Nanomedicinii în care UMF Cluj a fost coordonator sau partener.

În cadrul proiectelor de cercetare derulate în ultimii 5 ani au fost obținute de către Dr. Mocan cinci brevete de invenție: 125476 RO-BOPI 5/2010 din 28.05.2010 ; 13790 A2 -RO-BOPI 12/2005 din 30/12/2015 ; 130791 A2 -RO-BOPI 12/2005 din 30/12/2015 ; 130792 A2 -RO-BOPI 12/2005 din 30/12/2015 ; 130737 A2- RO-BOPI 12/2005 din 30/12/2015.

În calitate de membru fondator al Departamentului de Nanomedicină al Disciplinei Chirurgie 3 ([www.nmn.ro](http://www.nmn.ro)), Dr. Mocan a contribuit activ la dezvoltarea acestei infrastructuri moderne care găzduiește mai multe laboratoare de vârf în care se desfășoară experimente din domeniul biochimiei, biofizicii, nanotehnologiei și biologiei celulare și moleculare. Aceste laboratoare sunt dotate cu echipamente de excepție, o parte fiind achiziționate din fondurile celor 4 granturi de cercetare pe care le-am câștigat și coordonez. Astfel am achiziționat din

aceste granturi coordonate sau redactate personal următoarele echipamente: ► sistem robotizat de microscopie avansată în imunofluorescență cu 4 filtre și contrast de fază Olympus FSX 100, (la vremea achiziționării a fost singurul microscop de acest tip din Europa); ► sistemul de microscopie de forță atomică TT- AFM- Imaging System; ► sistem de cuantificare a nanoparticulelor prin DLS de tip Zetasizer; ► microscop hiperspectral de cuantificare prin tehnică dark field CytoViva; ► spectrometru FTIR Perkin Elmer spectrum 2; ► spectrofotometru UV-Vis (Shimadzu), ► generator de radiofrecvență 40 Hz, ► spectrofotometru de tip multilabel Perkin Elmer Victor 3, un turn de electroforeză Serva. Laboratorul dotat din aceste proiecte este capabil să susțină experimentele terapiei nanofototermice în vitro, biologiei celulare și moleculare, genetică, imunologie, nanoterapii ex vivo.

Din cele 4 proiecte coordonate de Dr. Mocan au fost finanțate o serie de cursuri internaționale de training de tip hands-on pentru membri tineri ai echipelor de cercetare-studenți, medici rezidenți și post/doctoranzi (Gonciar Diana-student, Coman Corina-student, Cosma Meda-rezident, Matea Cristian-doctorand, Mocan Teodora postdoc) care au permis implementarea ulterioară a acestor tehnici de vârf în laboratorul nostru: ► Biologie Moleculară , Studii de Transfecție și Funcționale - Societatea de Fiziologie și University College of London, 26-29 martie- Londra 2012 ► Hands-On Course în Sample Preparation using nanoparticles for Proteomics, Biochemical and Medical Diagnosis- European Proteomic Association, PROTEOMASS Scientific Society, BIOSCOPE Research Group și Departamentul de Chimie al Facultății de Știință și Tehnologie a Universității NOVA, Lisabona, Portugalia, 28-30 Martie 2013 ► Cell culturing course –LabMagister Training Ltd. Budapesta 25-27 iunie 2014 ► Basic Course ELIȘA Lab- Academy GmbH. 7-8 mai 2012 ► Internațional Summer School on Cytometry- Modulul „Basic Flow Cytometry”, Universitatea Valencia, Spania, 8-13 iulie 2013 ► Cell culturing course –LabMagister Training Ltd. Budapesta 25-27 iunie 2014

Cercetările personale în domeniul nanofototermolizei tumorilor maligne pancreatice și hepatice mediate de nanoparticule biofuncționalizate cu anticorpi au atras atenția diverselor medii internaționale online, cum ar fi: ► Oficiul Român pentru Știință și Tehnologie (Bruxelles, [www.rosteu.net](http://www.rosteu.net)), Nanobiotechnology and Nanomedicine, (<http://www.technologynetworks.com>-secțiunea știri), ► [www.medscape.com](http://www.medscape.com), ► [www.science.gov](http://www.science.gov) ► [www.azonano.com](http://www.azonano.com) ► [www.worldwidescience.org](http://www.worldwidescience.org), etc.

Pe plan național cercetările pe care le-am efectuat în domeniul ablației fototermale nanomediate selectiv a hepatocarcinomului au atras atenția a peste 30 de jurnale și televiziuni cu acoperire națională din care amintim: gândul.info, mediafax.ro, descoperă.ro, adevărul.ro, tvr, antena1, digi24 etc.

Plecând de la aceste rezultate intentionăm pe viitor aplicarea lor în inovarea, dezvoltarea și comercializarea unui echipament de termocoagulare prin iradiere cu laser concomitent cu administrarea intratumorală de nanoparticule fotoresponsive coloidale și biocompatibile care sunt aprobate administrării pe subiecți umani. Acest potențial sistem pe care îl propunem va genera o iradiere localizată intratumorală urmată de necroza termică selectivă prin fenomen de rezonanță plasmonică laser a nanoparticulelor administrate în tumora excitată fototermal. Din punct de vedere conceptual intentionăm ca această procedură pe care o dezvoltăm să poată fi utilizată clinic pe multe țesuturi tumorale gastrointestinale. După cunoștința noastră acest concept este unic în practica curentă la nivel

mondial. Datorita selectivitatii de tinta data de administrarea intratumorala minim invaziva se intentioneaza obtinerea unei necroze selective.

În plus față de multe alte terapii cu efecte devastatoare pentru pacientii cu cancer digestiv cum ar fi radioterapia sau chimioterapia, un astfel de sistem dezvoltat de noi ar fi extrem de util ca un tratament de cancer din cauza abordării minim invazive, repetabilitatii, și datorita faptului ca se poate realiza concomitent cu alte tratamente. Sistemul ce urmeaza a fi propus de noi pe baza cercetarilor doctorale este extrem de util în mod special ca tratament oncologic digestiv deoarece produce leziuni de dimensiuni previzibile, nu folosește radiații ionizante, și poate fi realizat prin chirurgie minim invaziva.