

## Realizari in cadrul INTERA-2/ Etapa I, An 2018: “Realizarea unor matrici 3D biocompatibile, functionalizate cu celule valvulare”

- (i) Angajarea a 3 tineri cercetatori (unul in IBPCNS si doi in ICMPP);
- (ii) Publicarea unui articol;
- (iii) Publicarea unui capitol de carte;
- (iv) Dintre cele mai importante rezultate stiintifice mentionam:

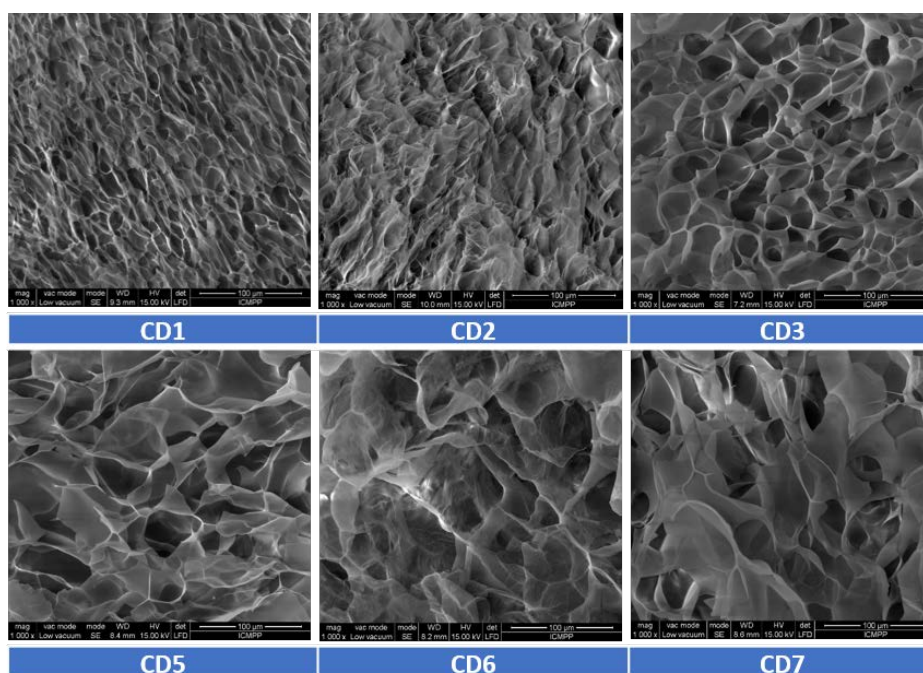
### a. Obtinerea hidrogelurilor celuloza-dextran:

In **Tabelul 1** sunt prezentate gradele de umflare, randamentul de obtinere si marimea medie a porilor, date caracteristice hidrogelurilor pe baza de celuloza si dextran. Dupa cum se observa, gradul maxim de umflare al acestor hidrogeluri creste cu cresterea cantitatii de dextran din biomatrice. In acest sens, hidrogelul din celuloza are o valoare a gradului de umflare de 1706%, pentru ca la un raport celuloza:dextran=50/50, gradul de umflare sa fie 2746%, ajungand la o valoare de 5072% pentru hidrogelul obtinut numai din dextran.

Valorile obtinute pentru randamentul de obtinere a hidrogelurilor arata ca acesta devine cu atat mai mic cu cat creste cantitatea de dextran din sistem.

**Tabelul 1.** Caracteristi ale hidrogelurilor celuloza-dextran

Proba	Qmax, %	$\eta$	Media dimensiunii porilor, $\mu\text{m}$
CD1	5072	83,33	11,95
CD2	4313	92,62	8,53
CD3	3099	83,40	21,39
CD4	2746	92,96	24,25
CD5	2366	98,73	26,87
CD6	2251	98,94	34,62
CD7	1706	99,50	27,32

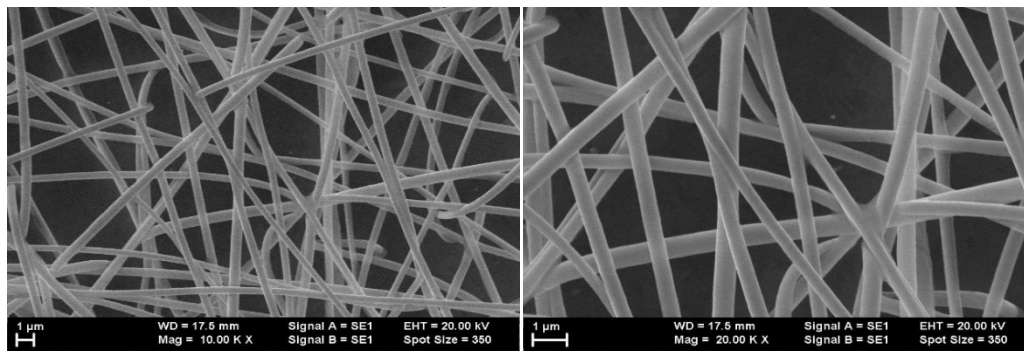


**Fig. 1.** Imagini SEM ale hidrogelurilor celuloza-dextran cu compozitii diferite

Imaginile SEM obtinute pentru hidrogelurile pe baza de celuloza-dextran arata ca microarhitectura lor este omogena, prezinta pori care au dimensiuni uniforme si sunt interconectati, un criteriu important in vederea cresterii si dezvoltarii celulare (**Figura 1**).

### b. Obținerea membranelor electrofilate:

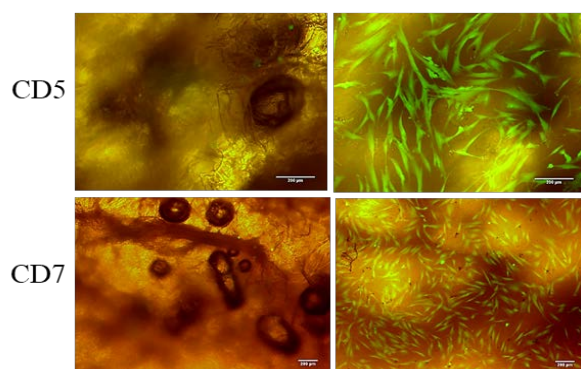
Membranele electrofilate din PMMA, au fost supuse analizei SEM unde s-a putut observa ca membranele obtinute prezinta o morfologie fibroasa, cu fibre cu diametre de aproximativ 1 micrometru (Fig 2).



*Fig. 2. Imagini SEM ale fibrelor de PMMA electrofilate în soluție de dimetilformamidă.*

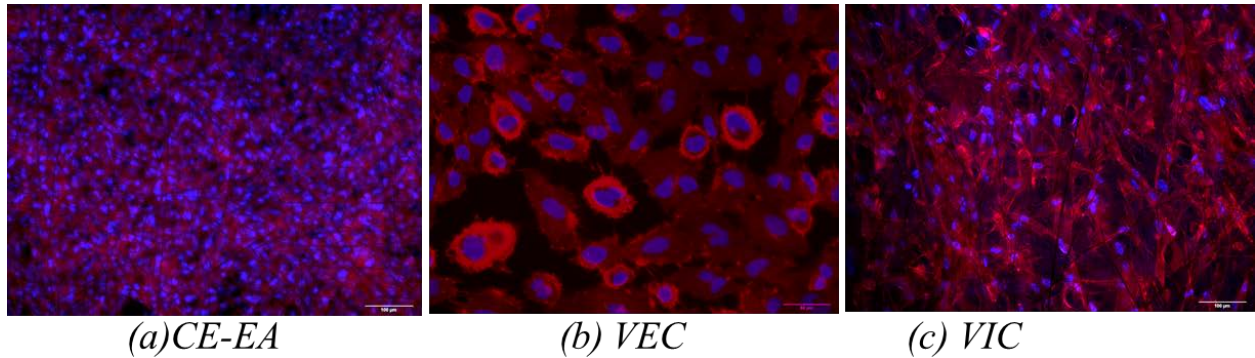
### c. Incapsularea celulelor umane in hidrogeluri de celuloza-dextran si in matricile electrofilate

Testarea fenotipului celular dar si a biocompatibilitatii biomatricilor 3D s-a realizat prin vizualizarea celulelor insamantate pe hidrogeluri si prin teste de viabilitate. Inainte de cultivarea pe criogelurile **celuloza-dextran**, celulele au fost colorate cu calceina, un colorant comercial care marcheaza fluorescent celulele vii (fiura 3).



*Fig. 3: Celule fibroblaste umane colorate cu calceina si cultivate pe hidrogeluri din **celuloza-dextran**; stanga - imagine focalizata pe planul din interiorul hidrogelului; dreapta - imagine focalizata sub material.*

In experimentele in care celulele umane valvulare au fost cultivate pe **membranele electrofilate** celulele au fost fixate, permeabilizate si colorate cu faloidina-TRITC/DAPI (Figura 4).



**Figura 4.** Imagini de microscopie de a *membranelor electrofilate* si populate cu: (a) celule endoteliale EAhy926 CE-EA, (b) celule endoteliale valvulare - VEC si (c) celule interstițiale valvulare (VIC): rosu- actina colorata cu phaloidina, albastru nucleii colorati cu DAPI.

Dupa cum se observa, celulele endoteliale (CE-EA si VEC) adera la membranele electrofilate si fac monostrat iar celulele interstițiale valvulare (VIC) sunt compatibile cu membrana prezentand o morfologie alungita, specifica tipului celular. Mai mult, se observa ca aceste celule se interconecteaza si formeaza rețele celulare, sugerand aderența si compatibilitatea cu membrana.

#### **DISEMINARE INTERA-2 2018:**

##### **► Participari la manifestari stiintifice:**

1. Elena Butoi, Sergiu Cecoltan, Letitia Ciortan, Razvan D Macarie, Florin Iordache, Monica Tucureanu, Mihaela Vadana, Agneta Simionescu, Maya Simionescu, Ileana Manduteanu. **Constructing of 3D gelatin scaffolds for aortic valve tissue engineering**, - **Al X-lea Congres Național de Biologie Celulară și Moleculară cu participare internațională** a XXXVI-a Sesiune Anuală a Societății Române de Biologie Celulară” Craiova, Romania, 6-9 iunie - **poster premiat**.

2. Mihaela Vadana, Razvan Daniel Macarie, Letitia Ciortan, Monica M Tucureanu, Ileana Manduteanu, Maya Simionescu, Elena Butoi. **Molecular and cellular alterations induced by macrophage-smooth muscle cells cross-talk accountable for atherosclerosis plaque vulnerability**. 27th European Cardiology Conference” Rome, Italy, October 21-24, 2018 – poster

3. Petrovici A. R., Ciolacu D., **Procedure of dextran biosynthesis by *Weissella confusa* ICMPP29 and the composition of culture media**. The 22<sup>th</sup> International Salon of Research, Innovation and Technological Transfer - Inventica 2018, **27-29.06.2018**, Iasi, Romania.

##### **► Comunicari orale:**

1. International Symposium of Chemical Engineering and Materials, SICHEM 2018, **6 – 7.09.2018**, Universitatea Politehnica Bucuresti, Romania, Petrovici A. R., Silion M., Roșca I., Ciolacu D., The four different culture media influences on the polymer biosynthesis.

2. 4<sup>th</sup> International Conference on Chemical Engineering, ICCE 2018, **31.10-02.11.2018**, Iasi, Romania, Ciolacu D. E., Petrovici A. R., New hydrogels based on cellulose for biomedical application.

##### **► Lucrari publicate:**

Macarie RD, Vadana M, Ciortan L, Tucureanu MM, Ciobanu A, Vinereanu D, Manduteanu I, Simionescu M, Butoi E. **The expression of MMP-1 and MMP-9 is up-regulated by smooth muscle cells**

after their cross-talk with macrophages in high glucose conditions. J Cell Mol Med. 2018 Sep;22(9):4366-4376.

► **Capitol Carte-Open Acces**

Petrovici A.R., Ciolacu D. - "Natural flavours obtained by microbiological pathway" in cartea OPEN ACCES "Generation of Aromas and Flavours", ISBN 978-953-51-6240-7.

**CONCLUZII:**

Obiectivul etapei I al subproiectului **P1-INTERA** a fost indeplinit in totalitate:

***Indicatori de realizare au fost atinsi:***

- (i) Au fost selectate mai multe tipuri de polimeri naturali (dextran, gelatina, colagen, celuloza) si sintetici (polimetilmetacrilat-PMMA, alcool polivinilic), precursori in realizarea ulterioara a criogelurilor si membranelor electrofilate;
- (ii) Testele de viabilitate au demonstrat biocompatibilitatea hidrogelurilor obtinute cu celulele umane endoteliale, fibroblaste si interstitiale valvulare;
- (iii) S-au stabilit liste cu combinatiile optime de polimeri, atat pentru cazul hidrogelurilor pe baza de celuloza-dextran, cat si pentru membranele electrofilate;
- (iv) Criogelurile si membranele electrofilate obtinute au fost caracterizate prin stabilirea gradului de umflare, a morfologiei acestora (microscopie SEM) si a cristalinitatii probelor (difractie cu raze X).
- (v) S-a analizat morfologia celulelor care au populat matricile obtinute si s-a constatat ca membrana electrofilata favorizeaza dezvoltarea fenotipului specific celulelor cultivate in timp ce criogelurile nu permit o aderare totala si astfel un fenotip specific celulelor care il populeaza.
- (vi) Au fost angajati 3 tineri, unul in IBPC "N. Simionescu" (Mihaila Andreea Cristina) si a doi tineri in INCDFM (Apostol Mariana Mihaela si Sandu Alexandra).
- (vii) Au fost publicate: un articol ISI si un capitol de carte.