

Application of Copper-Based NPs for Cancer Therapy in 3D Microfluidic-Based Cell Culture Model

Paula Guerrero López¹, José Ignacio García Peiró^{2,3}, Felipe Hornos Adán^{2,4}, José L. Hueso^{2,3,5}, José Manuel García Aznar^{1,5}, Jesús Santamaría^{2,3,5}

¹ Multiscale in Mechanical and Biological Engineering (M2BE)
Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)
Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.
Tel. +34- 876 555 461, e-mail: paulaguerrero@unizar.es

²Instituto de Nanociencia y Materiales de Aragón (INMA)

³Networking Research Center in Biomaterials, Bioengineering and Nanomedicine (CIBER-BBN)

⁴Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche (IDiBE)

⁵Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS-Aragón)

Resumen

En este trabajo se ha utilizado un modelo de cultivo celular 3D basado en microfluídica para crecer esferoides tumorales de glioblastoma y realizar un estudio del efecto de NPs basadas en cobre como posible terapia antitumoral. Se han obtenido resultados satisfactorios sobre el crecimiento, la viabilidad y la capacidad metastásica.

Introducción

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, representando unos 10 millones de muertes al año, y la búsqueda de su cura es el principal objetivo de un gran porcentaje de investigadores en todo el mundo¹. Existe una gran variedad de enfoques para la investigación del cáncer y en este trabajo nos hemos centrado en los cultivos celulares tridimensionales (3D).

La mayor parte de la investigación en biología del cáncer se basa en experimentos con cultivos celulares bidimensionales (2D) in vitro, pero este tipo de cultivo tiene muchas limitaciones, lo que ha llevado al desarrollo de cultivos celulares 3D que permiten una mejor comprensión de la biología del cáncer². De esta manera, hemos creado un modelo de cultivo 3D en el laboratorio que recrea el proceso de formación de un tumor con la ayuda de un sistema microfluídico, permitiéndonos tener un control razonable del entorno³. Utilizando este modelo, hemos realizado un screening de una posible terapia antitumoral basada en nanopartículas (NPs) de cobre. Este elemento se ha elegido como agente terapéutico para el tratamiento del cáncer debido a que sus iones pueden alterar selectivamente la homeostasis redox intracelular modulando los niveles intracelulares de ROS⁴ o incluso producir muerte por cuproptosis^{5,6}.

Materiales y métodos

Para llevar a cabo este proyecto se han utilizado diversas técnicas microfluídicas, de microscopía y análisis de imágenes y de cultivo celular.

Los dispositivos microfluídicos están fabricados con PDMS, con una cámara central que contiene gel de colágeno de tipo I que sirve de sustrato para el cultivo celular y dos canales laterales por los que se introducen los nutrientes⁷. Las células en el interior del dispositivo se monitorizaron mediante un microscopio de contraste de fase. Se realizaron diferentes tinciones para estudiar la estructura y viabilidad de los esferoides que se visualizaron mediante microscopía confocal. Finalmente, para el análisis de las imágenes se utilizó ImageJ y Matlab.

Resultados y discusión

En este estudio se ha realizado un screening de distintas NPs basadas en cobre como posible terapia antitumoral contra glioblastoma. De esta manera, se ha determinado la agresividad de las distintas NPs sobre los esferoides en base al estudio de distintos parámetros como son el crecimiento, la viabilidad, la estructura, la capacidad de migración y marcadores de la Transición Epitelio-Mesénquima (EMT). Se han obtenido resultados muy positivos siendo que las NPs afectan gravemente no sólo al crecimiento y viabilidad tumoral sino también a la capacidad metastásica.

Conclusiones

Este trabajo propone un modelo novedoso que engloba todo el proceso de formación, crecimiento y mantenimiento del tumor, permitiendo estudiar todas las etapas y el efecto de distintas terapias sobre cada una de ellas. Además, el avance en el estudio de las técnicas microfluídicas y de cultivo celular en 3D supone un valor añadido al proyecto, ya que es una tecnología que ofrece grandes ventajas y facilita la

investigación. Finalmente, las NPs suponen una terapia en auge para el tratamiento del cáncer debido a que permiten tener una acción combinada de sus componentes además de un mayor control sobre la diana terapéutica^{8,9}.

Agradecimientos

Este trabajo cuenta con el apoyo del European Research Council (ERC) a través del proyecto Catalytic Dual-Function Devices Against Cancer (CADENCE-742684), RLDI/2015-021 y el Departamento de Ciencia, Universidad y Sociedad del Conocimiento del Gobierno de Aragón (T50_20R).

REFERENCIAS

- [1]. KUMAR, Nitesh, et al. Preliminary investigation of cytotoxic potential of 2-quinolone derivatives using in vitro and in vivo (solid tumor and liquid tumor) models of cancer. *Arabian Journal of Chemistry*, 2014, vol. 7, no 4, p. 409-417.
- [2]. KAPALCZYŃSKA, Marta, et al. 2D and 3D cell cultures—a comparison of different types of cancer cell cultures. *Archives of Medical Science*, 2018, vol. 14, no 4, p. 910-919.
- [3]. PLOU, J., et al. From individual to collective 3D cancer dissemination: roles of collagen concentration and TGF- β . *Scientific reports*, 2018, vol. 8, no 1, p. 12723.
- [4]. GORRINI, Chiara; HARRIS, Isaac S.; MAK, Tak W. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature reviews Drug discovery*, 2013, vol. 12, no 12, p. 931-947.
- [5]. TSVETKOV, Peter, et al. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. *Science*, 2022, vol. 375, no 6586, p. 1254-1261.
- [6]. BONET-ALETA, Javier, et al. Therapeutic Copper-based Nanoparticles Release Labile Copper (II) and Trigger Cellular Responses in Glutathione and NRF2 Redox Pathways and Metal Homeostasis. *ChemRxiv*[®], 2023.
- [7]. SHIN, Yoojin, et al. Microfluidic assay for simultaneous culture of multiple cell types on surfaces or within hydrogels. *Nature protocols*, 2012, vol. 7, no 7, p. 1247-1259.
- [8]. DONG, Caihong, et al. The Coppery Age: Copper (Cu)-Involved Nanotheranostics. *Advanced Science*, 2020, vol. 7, no 21, p. 2001549.
- [9]. BONET-ALETA, Javier; GARCIA-PEIRO, Jose I.; HUESO, Jose L. Engineered nanostructured photocatalysts for cancer therapy. *Catalysts*, 2022, vol. 12, no 2, p. 167.