

ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITULUL DE VIRUSOLOGIE ”ȘTEFAN S. NICOLAU”

REZUMATUL
TEZEI DE DOCTORAT

**“STUDIUL UNOR MECANISME CELULARE ȘI MOLECULARE
IMPLICATE ÎN TRANSFORMAREA, INVAZIA ȘI METASTAZAREA
CELULELOR TUMORALE ÎN CANCERELE SFEREI ORL”**

Coordonator științific: Dr. Lorelei Irina Brașoveanu

Doctorand: Petrică-Matei V. Georgiana-Gabriela
(fostă Matei)

- 2017 -

CUPRINS

INTRODUCERE

I. PARTEA TEORETICĂ - STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTIȚELOR

- I.1. Cancerul. Aspecte generale – Cancerul sferei ORL
- I.2. Biologia tumorilor din sfera ORL – Generalități
- I.3. Mecanisme celulare și moleculare implicate în transformarea, invazia și metastazarea celulelor tumorale
 - I.3.1. Mecanisme moleculare implicate în reglarea procesului apoptotic în celulele tumorale
 - I.3.2. Mecanisme moleculare implicate în realizarea ciclului celular în celulele tumorale
 - I.3.3. Rolul genelor tumorale - supresoare și a proto-oncogenelor în procesele proliferative
 - I.3.3.1. Rolul genelor TP53, MDM2, Bcl-2 și c-MYC în procesele tumorale ORL
 - I.3.3.1.1. Rolul Genei TP53 în procesele tumorale
 - I.3.3.1.2. Rolul Genei C-MYC în procesele tumorale
 - I.3.4. Rolul p38 MAPK-lor în procesele tumorale
 - I.3.4.1. Rolul P38 MAPK-lor în procesele de carcinogeneză
 - I.3.4.2. Rolul p38 MAPK în reglarea ciclului celular
 - I.3.4.3. Rolul P38 MAPK-lor în reglarea apoptozei
 - I.3.4.4. Rolul P38-MAPK-lor în invazia tumorală și metastază
 - I.3.4.5. P38-MAPK - noi ținte terapeutice
- I.4. Abordări terapeutice în cancerul sferei ORL
- I.5. Substanțe biologice active cu rol în modularea răspunsului la terapie în cancerul sferei ORL

II. PARTEA EXPERIMENTALĂ

- II.1. Materiale și metode
 - II.1.1. Culturi Celulare
 - II.1.1.1. Tehnici de bază în culturi celulare
 - II.1.1.2. Tehnici pentru cultivarea liniilor celulare standardizate derivate din tumori solide
 - II.1.1.2.1. Caracteristici generale ale liniilor celulare standardizate
 - II.1.1.3. Imortalizarea și menținerea în cultură a celulelor derivate din tumori solide recoltate de la pacienții cu neoplazii

- II.1.2. Tehnici pentru testarea proliferării celulare sau a citotoxicității induse de compuși biologici activi
 - II.1.2.1. Tehnici colorimetrice de determinare a viabilității celulare
 - II.1.2.2. Evaluarea proliferării celulare și a citotoxicității prin analiza celulară în timp real
- II.1.3. Tehnici de citometrie in flux
 - II.1.3.1. Estimarea apoptozei prin dubla marcarea cu anexina V- FITC și iodură de propidiu
 - II.1.3.2. Analiza dinamicii ciclului celular
 - II.1.3.3. Evaluarea expresiei antigenice
- II.1.4. Tehnici imunoenzimatică (ELISA)
- II.1.5. Tehnica de hibridizare in situ cu fluorescență – FISH
- II.1.6. Analiza Real-Time PCR

REZULTATE ȘI DISCUȚII

III. Elaborarea modelului experimental și stabilirea condițiilor de lucru

- III.1. Particularități în cultivarea liniilor celulare standardizate
- III.2. Stabilirea coordonatelor necesare realizării planului experimental

IV. Studiul efectelor induse de cisplatin (CisPt) în prezența sau absența unor compuși naturali asupra procesului de proliferare

- IV.1. Modularea proliferării celulelor ORL prin tehnici colorimetrice
- IV.2. Modularea procesului de proliferare celulară prin analiză în timp real (RTCA)

V. Analiza modificărilor morfologice induse de tratamentul cu CisPt și/sau unii compuși naturali

- V.1. Analiza modificărilor morfologice induse în linia tumorală FaDu
- V.2. Analiza modificărilor morfologice induse în linia tumorală PE/CA-PJ49
- V.3. Analiza modificărilor morfologice induse în linia tumorală HUVEC

VI. Evaluarea efectului indus de tratamentul cu cisplatin în prezența sau absența unor compuși naturali asupra procesului apoptotic

VII. Analiza efectului indus de tratamentul cu cisplatin în prezența sau absența unor compuși naturali asupra expresiei unor proteine cu rol în modularea apoptozei

- VII.1. Analiza efectului indus de tratamentul cu cisplatin în prezența sau absența unor compuși naturali asupra expresiei unor proteine cu rol în modularea apoptozei
 - VII.1.1. Analiza expresiei proteinei p53
 - VII.1.2. Analiza expresiei proteinei mdm2
 - VII.1.3. Analiza expresiei proteinei bcl-2

VIII. Analiza efectului indus de tratamentul cu cisplatin în prezența sau absența unor compuși naturali asupra expresiei unor gene cu rol în modularea apoptozei

- VIII.1. Analiza citogenetică moleculară (FISH) a genei TP53
- VIII.2. Analiza expresiei unor gene cu rol în modularea apoptozei
 - VIII.2.1. Analiza expresiei genei TP53

VIII.2.2. Analiza expresiei genei MDM-2

VIII.2.3. Analiza expresiei genei Bcl-2

IX. Stabilirea unor relații între nivelul de expresie al proteinei p53, activarea p38MAPK și procesul apoptotic în celulele tumorale din sfera ORL

IX.1. Studiul efectelor induse de tratamentul cu CisPt și/sau RSV, CRM asupra activării p38MAPK în liniile celulare tumorale ORL

IX.2. Studiul efectelor induse de tratamentul cu CisPt și/sau RSV, CRM asupra procesului de fosforilare al proteinei p53 în liniile celulare tumorale ORL

X. Determinarea efectului indus de tratamentul cu cisplatin în prezența sau absența unor compuși naturali asupra modulării ciclului celular

X.1. Determinarea efectului indus asupra expresiei proteinei c-myc în celulele tumorale

X.2. Analiza efectului indus expresiei genei c-MYC

X.3. Evaluarea efectului indus asupra fazelor ciclului celular al celulelor tumorale

XI. Analiza efectelor terapiei asociate asupra procesului apoptotic mediat de p53, pe culturi de celule din tumori

CONCLUZII

BIBLIOGRAFIE

LISTĂ ABREVIERI

LISTĂ FIGURI

LISTĂ TABELE

CUVINTE CHEIE

Cancer sfera ORL, apoptoză, ciclul celular, p38 MAPK, p53

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cancerul este o maladie datorată procesului de multiplicare dezordonată a unei celule care a scăpat de sub controlul mecanismelor de autoreglare ale organismului, înregistrându-se o abatere de la funcția pe care aceasta ar fi trebuit să o îndeplinească. Multiplicarea celulară necontrolată determină apariția unor formațiuni nodulare, care se încadrează în categoria tumorilor solide. Evoluția bolilor neoplazice este un proces silențios și adesea simptomele apar numai atunci când masa tumorală este suficient de voluminoasă pentru a genera tulburări în funcționalitatea organului în care apare.

Cancerul la nivelul sferei oro-laringo-faringiene (ORL) este o maladie agresivă, care ocupă locul al șaselea din lume din punct de vedere al mortalității datorate cancerelor (Dhanda și colab., 2014) și cu o incidență crescută care variază în funcție de regiunile eco-geografice (Scully și colab., 2008). România se situează printre țările cu o mortalitate medie datorată diferitelor forme de cancer, acesta fiind unul din motivele inițierii studiilor prezentate în această teză de doctorat.

În alegerea tratamentului oncologic trebuie să se țină cont de nivelul de stadializare, localizare și agresivitatea histologică a tumorii identificate. Deși metodele de diagnostic a neoplasmelor din sfera ORL au cunoscut un progres real, unul din motivele principale ale absenței unui răspuns favorabil la terapie este prezentarea pacienților cu întârziere la consult, ceea ce conduce la descoperirea bolii în stadii avansate, când se înregistrează o invazie tumorală la nivelul ganglionilor limfatici, și de cele mai multe ori metastaze la nivelul altor organe. Tratamentul cancerului presupune o abordare multidisciplinară complexă, cuprinzând chimioterapia, radioterapia, chirurgia oncologică, imunoterapia, fiecare având rolul ei bine stabilit în funcție de tipul cancerului, stadiul și afecțiunile asociate, pentru care există protocoale bine stabilite, dezvoltate de organisme mondiale de profil, care să asigure o acțiune coordonată în vederea obținerii unor rezultate favorabile. Totuși, în prezent se caută modalități prin care să se reducă efectele adverse ale terapiei convenționale. Deoarece, la nivelul sferei ORL, tratarea majorității tipurilor de cancer este dificilă și se înregistrează un număr crescut al cazurilor de recurență apărute după îndepărtarea chirurgicală a tumorilor primare, se impune realizarea unui studiu complex care să vină în sprijinul unei noi abordări terapeutice în scopul îmbunătățirii calității vieții pacienților diagnosticați cu această formă de cancer.

Alterarea expresiei genice joacă un rol cheie în patogeneza cancerului, iar calea transmiterii semnalelor prin intermediul kinazelor activate de mitogeni (MAPK) poate fi direct implicată în realizarea răspunsurilor celulare. Din acest motiv, căile de semnalizare intracelulară pot deveni ținte atractive pentru dezvoltarea unor noi medicamente.

Scopul acestei teze de doctorat a fost acela de a evidenția modificări ale expresiei unor molecule asociate unor căi de semnalizare celulară, care pot controla proliferarea celulară sau pot influența diverse procese biologice, cum ar fi apoptoza și ciclul celular. De asemenea, s-a urmărit efectul unor compuși naturali asupra răspunsului la terapia convențională cu citostatice, specifică sferei ORL, fără a afecta capacitatea anti-tumorală a acestora.

Obiectivele urmărite pe parcursul tezei de doctorat au fost:

1. Studiul capacității proliferative a celulelor din linii tumorale din sfera ORL standardizate și a modului în care poate fi influențată de tratamentele cu citostatice, în combinație cu compuși naturali.
2. Analiza efectului indus de tratamentul cu citostatice, în prezența sau absența unor compuși naturali, asupra expresiei unor proteine sau gene cu rol în modularea apoptozei sau a ciclului celular (p53, mdm2, bcl-2, respectiv c-myc) al celulelor tumorale din sfera ORL.
3. Studiul efectelor induse de tratamentul cu un citostatic și/sau compuși naturali asupra activării p38 MAPK în linii celulare tumorale ORL.
4. Determinarea efectului indus de tratamentul cu citostatice și/sau compuși naturali asupra dinamicii ciclului celular al celulelor tumorale din sfera ORL.
5. Analiza efectelor terapiei asociate cu citostatic și/sau unii compuși naturali asupra procesului apoptotic mediat de p53, pe culturi de celule obținute din tumori de la pacienți cu neoplazii ORL.

Pentru atingerea scopului și obiectivelor propuse, studiile s-au realizat pe culturi de linii celulare standardizate, iar studiul s-a extins pe culturi celulare obținute din fragmente tumorale prelevate de la pacienți diagnosticați cu diferite neoplasme la nivelul sferei ORL. Cu ajutorul tehnicilor de citometrie în flux, RTCA, citochimie, teste imunoenzimatiche tip ELISA s-a determinat expresia unor proteine cu rol în patogeneza cancerului din sfera ORL. De asemenea,

cu ajutorul tehnicilor de biologie moleculară de ultimă generație (FISH, qRT-PCR) s-au identificat și caracterizat genele codificatoare specifice, implicate în căile de semnalizare celulară (apoptoza, proliferarea celulară, repararea leziunilor la nivel ADN, etc) și care pot contribui la o mai bună înțelegere a biologiei tumorale.

Deoarece datele din literatură privind cancerul sferei ORL nu oferă suficiente informații legate de răspunsul slab la tratamentul cu citostatice, mecanismele de acțiune ale acestora, cât și despre modalitatea prin care unii compuși naturali ar putea potența efectele citostaticelor, orice informație suplimentară reprezintă un beneficiu real pentru practica oncologică. În plus, evaluarea modificărilor la nivel molecular induse prin administrarea de citostatice, asociate sau nu cu compuși naturali, ar putea contribui într-o bună măsură la elucidarea unor aspecte legate de semnalizarea moleculară în interacțiunile celulare (normale și canceroase) în evoluția tumorală.

Rezultatele acestei teze de doctorat sugerează unele căi de îmbunătățire a managementului pacienților cu cancer, evidențiind mai multe direcții viitoare: dezvoltarea de teste de diagnostic cu sensibilitate superioară, care să permită depistarea cancerului în stadii incipiente, îmbunătățind prognosticul pacienților; identificarea de noi ținte tumorale cu rol potențial în terapia oncologică; abordarea unor terapii conjugate care să permită un control local sporit, cu protejarea țesuturilor normale înconjurătoare, și nu în ultimul rând dezvoltarea de tratamente și protocoale terapeutice, personalizate, care să țină cont atât de caracteristicile bolii, cât și de cele ale pacientului pentru obținerea unor rate de vindecare și supraviețuire superioare.

Originalitatea acestui studiu constă în abordarea experimentală, realizată în scopul modulării unor mecanisme celulare și moleculare implicate în transformarea, invazia și metastazarea celulelor tumorale în cancerul sferei ORL. Rezultatele obținute în urma experimentelor de modulare pot oferi soluții în găsirea unor alternative terapeutice prin care răspunsul la terapia cu cisplatin să fie îmbunătățit și să reducă sau reverseze rezistența la chimioterapia specifică sferei ORL. În acest sens s-a observat că tratamentul combinat CisPt cu compuși naturali mediază activarea unor molecule, cum ar fi p38MAPK sau p53, demonstrându-se pentru prima dată în acest tip de cancer existența unei relații între aceste molecule. Pe de altă parte, încercarea de a aplica tratamentul combinat asupra liniilor celulare primare obținute din tumorile pacienților a condus la rezultate ce încurajează dezvoltarea unor metode de analiză personalizată a răspunsului la terapie.

Teza este structurată în două părți cuprinzând 129 figuri și 24 tabele, dintre care 106 figuri și 19 tabele în partea a doua, 302 de referințe bibliografice și se extinde pe parcursul a 232 pagini.

În prima parte, partea teoretică - stadiul actual al cunoștințelor, organizată într-un singur capitol cu șase subcapitole, sunt prezentate noțiuni generale despre cancerul sferei ORL (Capitolul I.1. și Capitolul I.2.), apoi sunt descrise mecanisme celulare și moleculare implicate în transformarea, invazia și metastazarea celulelor tumorale (Capitolul I.3.). În cel de-al patrulea capitol (Capitolul I.4.) sunt descrise câteva abordări terapeutice în cancerul sferei ORL, iar ultimul capitol (Capitol I.5.) este dedicat descrierii unor substanțe biologice active (resveratrol și curcumină) cu rol în modularea răspunsului la terapie în cancerul sferei ORL.

În a doua parte a lucrării, partea experimentală și rezultate și discuții, teza a fost structurată în zece capitole. Partea experimentală cuprinde materiale și metode utilizate în realizarea experimentelor acestei teze (Capitol II.1.1.) – tehnici de culturi celulare; (Capitol II.1.2.) - tehnici pentru testarea proliferării celulare sau a citotoxicității induse de compuși biologici activi; (Capitol II.1.3.) – tehnici de citometrie în flux; (Capitol II.1.4) – tehnici imunoenzimatiche; iar în capitolele Capitol II.1.5. și II.1.6. sunt descrise tehnici de biologie moleculară (FISH și PCR).

În capitolele III și IV au fost stabilite concentrațiile optime de lucru pentru cisplatin și compușii naturali utilizați în tratarea liniilor celulare tumorale (FaDu, PE/CA-PJ49), dar și pentru linia martor (HUVEC). Concentrațiile selectate au fost utilizate în toate testele acestui studiu (apoptoză, expresie antigenică, expresie genică și analiza fazelor ciclului celular).

În continuare, studiile tezei s-au concentrat pe analiza unor molecule cu rol în reglarea procesului apoptotic în scopul găsirii unor ținte terapeutice care să asigure o eficientizare a răspunsului la terapia convențională. Astfel, a fost analizat importanța nivelului de expresie a unor proteine (p53, mdm2 sau bcl-2) în progresia tumorală a cancerelor sferei ORL. În plus s-a studiat modul în care aceste molecule ar putea modula răspunsul la terapia cu cisplatin, prin implicarea directă sau indirectă în declanșarea proceselor apoptotice, dar și în reglarea ciclului celular (c-myc) în scopul obținerii unei îmbunătățiri a răspunsului la terapie.

În plus, s-a încercat stabilirea unei relații între nivelul de activare al p38MAPK-ei și procesul de fosforilare al proteinei p53, precum și modul în care aceste procese de activare pot influența realizarea procesului apoptotic în cancerul sferei ORL. Datele obținute sugerează că

activarea p53 este legată de activarea căii p38MAPK și ar putea oferi informații referitoare la capacitatea celulelor de a răspunde la tratamentul cu cisplatin. Astfel, o mai bună înțelegere a rolului p38MAPK ca răspuns la terapia cancerului ar putea conduce la noi abordări terapeutice în care modularea activității p38MAPK ar putea fi fundamentală.

Ca o completare a rezultatelor obținute pe linii celulare standardizate, deoarece caracterizarea celulelor tumorale izolate din fragmente tumorale de la pacienții cu cancer al sferei ORL, precum și realizarea culturilor de celule tumorale pot oferi informații utile în selecția și optimizarea tratamentului pentru un anumit tip de tumoră (Wawrose și colab., 2014), am izolat și cultivat celule tumorale obținute din tumori prelevate de la pacienți cu cancere ORL. Obținerea de linii celule tumorale provenite din tumori este dificilă, deoarece țesutul tumoral poate fi contaminat cu bacterii, dar și din cauza activității proliferative diferite pentru fiecare tip de celulă tumorală (Varley și colab., 2013). Totuși, în acest studiu au fost immortalizate cu succes 12 din 31 (39%) culturi celulare tumorale, derivate din carcinoame scuamose de la nivelul sferei ORL. Experimentele *in vitro* efectuate pe culturi celulare primare, derivate din carcinoame ORL au fost realizate în scopul testării expresiei unor markeri selectivi utili pentru un prognostic mai bun, dar și stabilirea tipului de tratament care ar putea fi mai util pacienților.

Concluziile studiilor:

- Datele obținute prin metoda RTCA au fost în concordanță cu datele obținute prin metoda colorimetrică MTT și au permis stabilirea concentrației optime la următoarele valori: CisPt 10 uM și 20 uM, RSV 50 uM, CRM 15 uM. Concentrațiile selectate au fost utilizate în toate testele acestui studiu (apoptoză, expresie antigenică, expresie genică și analiza fazelor ciclului celular).
- CisPt a determinat o scădere a procesului de proliferare în funcție de doză, dar și de timp în cazul liniilor celulare tumorale FaDu, PE/CA-PJ49. Tratamentul combinat CisPt și/sau RSV, CRM a condus la o scădere accentuată a procesului de proliferare în liniile tumorale. Aceste date arată că RSV și CRM pot potența efectul indus de CisPt asupra procesului proliferativ al celulelor tumorale.
- CisPt induce apoptoza în celulele tumorale FaDu și PE/CA-PJ49, efect amplificat de RSV sau CRM. Deși cei doi compuși naturali influențează într-un mod ușor diferit cele două linii tumorale, ei acționează ca agenți inductori de apoptoză și pot influența efectele induse de tratamentul cu CisPt. De asemenea, efectele induse de RSV sau CRM asupra celulelor martor endoteliale arată că în acest caz acești compuși au o toxicitate scăzută. Rezultatele obținute

încurajează folosirea RSV sau CRM ca adjuvant în terapia cancerului sferei ORL alături de CisPt.

- Tratamentul cu CisPt și/sau RSV a celulelor FaDu a condus la scăderea expresiei proteinei p53, în timp ce tratamentul cu CRM singular sau în combinație cu CisPt a determinat o creștere semnificativă a expresiei p53. La nivel genic, în celulele tumorale FaDu tratamentul combinat de CisPt cu RSV, dar mai ales cu CRM conduce la o activare a genei TP53 mult mai mare decât în cazul monoterapiei cu CisPt, RSV sau CRM .

- În celulele tumorale PE/CA-PJ49, CisPt induce o creștere a expresiei p53. Tratamentul cu RSV singur crește ușor expresia p53 și determină amplificarea genei TP53, dar are un efect antagonist asupra efectului generat de tratamentul cu CisPt. Tratamentul cu CRM singular sau în combinație cu CisPt, amplifică atât expresia proteinei p53, cât și expresia genei TP53 în celulele PE/CA-PJ49, dar mult mai puțin decât în cazul celulelor FaDu în aceleași condiții de tratament.

- În celulele liniei martor HUVEC, tratamentul cu RSV sau CRM nu afectează semnificativ expresia proteinei p53 în celule, însă efectul CisPt pare să fie ușor potențat atât de RSV, cât mai ales de CRM. Nivelul de expresie al genei TP53 în celulele HUVEC tratate cu RSV, CRM și CisPt nu este afectat de administrarea singulara, dar tratamentul combinat CisPt cu RSV sau CisPt cu CRM induce o creștere a expresiei genei TP53.

- Analiza comparativă a datelor obținute arată că în celulele tumorale FaDu tratamentul cu CisPt și/sau RSV, CRM a scăzut atât expresia proteinei mdm-2, cât și a genei MDM-2, comparativ cu celulele tumorale PE/CA-PJ49.

- Expresia proteinei bcl-2 și a genei Bcl-2 în celulele tumorale FaDu și PE/CA-PJ49 este diminuată de tratamentele cu RSV și CRM, aplicate singular sau în combinație cu CisPt.

- Între activarea p38MAPK și nivelul de fosforilare al p53 există o strânsă dependență, susținută de faptul că fosforilarea p53 a fost eliminată atunci când celulele au fost pre-tratate timp de 2h cu un inhibitor specific pentru p38 MAPK, indiferent de formula de tratament utilizată.

- Analiza datelor obținute arată că expresia proteinei c-myc în celulele tumorale FaDu și PE/CA-PJ49 netratate este mai mare decât cea înregistrată în celulele normale HUVEC.

- Tratamentul cu CisPt și/sau RSV, CRM nu afectează semnificativ expresia antigenei c-myc în celulele tumorale FaDu, însă la nivel genic s-a înregistrat o scădere a expresiei c-MYC la tratamentul cu CisPt sau RSV.

- Tratamentele cu CisPt, RSV și/ CRM reduc expresia proteinei c-myc cât și a genei c-MYC în celulele tumorale PE/CA-PJ49.

- Asupra celulelor tumorale FaDu, atât CisPt 10uM, cât și RSV 50uM induc o blocare a ciclului celular în faza G0/G1, în timp ce tratamentul cu CRM 15uM induce blocarea ciclului celular în faza G2+M.
- Analiza comparativă între modul în care au răspuns celulele celor două linii tumorale *versus* linia martor HUVEC a condus la concluzia că linia tumorală PE/CA-PJ49 este mai responsabilă la tratamentul cu CisPt și/sau RSV, CRM decât linia FaDu.
- Tratamentul cu RSV asupra celulelor tumorale obținute din tumoră induce efecte similare cu CisPt, atât asupra distribuției prin fazele ciclului celular, cât și asupra procesului apoptotic. Tratamentul concomitent cu CisPt cu RSV arată că RSV poate amplifica efectul indus de tratamentul cu CisPt asupra distribuției prin fazele ciclului celular, procesului apoptotic, cât și al expresiei proteinei p53.
- Analiza efectelor induse de aplicarea tratamentelor combinate CisPt +/- Rsv sau CRM asupra celulelor tumorale ORL, atât din linii standardizate, cât și inițiate din tumoră, recomandă acești compuși naturali ca potențiali adjuvanți în chimioterapie pentru a reduce toxicitatea cisplatinului, fără a afecta capacitatea anti-tumorală, în scopul de a micșora doza de citostatic și a proteja celulele normale.
- O mai bună înțelegere a rolului p38MAPK ca răspuns la terapia cancerului ORL ar putea conduce la noi abordări terapeutice în care modularea activității p38MAPK ar putea fi esențială.

Bibliografie

1. Dhanda, J., Triantafyllou, A., Liloglou, T., Kalirai, H., Lloyd, B., Hanlon, R., Shaw, R.J., Sibson, D.R., Risk, J.M. (2014). SERPINE1 and SMA expression at the invasive front predict extracapsular spread and survival in oral squamous cell carcinoma. *British Journal of Cancer*, 111, 2114–2121. doi: 10.1038/bjc.2014.500
2. Fulda, S. (2010). Modulation of apoptosis by natural products for cancer therapy. *Planta Med.*, 76, 1075–1079.
3. García-Cano, J., Roche, O., Cimas, F.J., Pascual-Serra, R., Ortega-Muelas, M., Fernández-Arocaand, D.M., Sánchez-Prieto, R. (2016). p38MAPK and Chemotherapy: We Always Need to Hear Both Sides of the Story. *Cell and Developmental Biology*, 4.
4. Hseu, Y.-C., Lee, M.-S., Wu, C.-R., Cho, H.-J., Lin, K.-Y., Lai, G.-H., Wang, S.-Y., Kuo, Y.-H., Senthil Kumar, K.J., Yang, H.-L. (2012). The Chalcone Flavokawain B Induces G₂/M Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in Human Oral Carcinoma HSC-3 Cells through the Intracellular ROS Generation and Downregulation of the Akt/p38 MAPK Signaling Pathway. *J. Agric. Food Chem.*, 60 (9), 2385–2397.
5. Jesudas, R., Zeng, Q., Garshott, D.M., Yoo, N., Fribley, A.M., Shavit, J.A., Callaghan U.M. (2016). Targeting Coagulation Mediators in Head and Neck Cancer. *Targeting Oral Cancer*, 263-281.
6. Marur, S., Forastiere, A.A. (2016). Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.*, 91 (3), 386-396
7. Reinhardt, H.C, Aslanian, A.S, Lees, J.A, Yaffe, M.B. (2007). p53-deficient cells rely on ATM- and ATR-mediated checkpoint signaling through the p38MAPK/MK2 pathway for survival after DNA damage. *Cancer Cell*, 11 (2), 175.
8. Scully, C., Bagan, J.V. (2008). Recent advances in oral oncology; squamous cell carcinoma imaging, treatment, prognostication and treatment outcomes. *Oral Oncol.*, 45:e, 25-30.
9. Taghavi, N., Biramijamal, F., Sotoudeh, M., Khademi, H., Malekzadeh, R., Moaven, O., Memar, B., A'rabi, A., Abbaszadegan, M.R. (2010). p16INK4a hypermethylation and p53, p16 and MDM2 protein expression in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *BMC Cancer*, 10, 138. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/10/138>.
10. Petrică-Matei, G.G., Iordache, F., Hainăroșie, R., Bostan, M. (2016). Characterization of the tumor cells from human head and neck cancer. *Rom J Morphol Embryol*, 57 (2), 791–799.
11. Wawrose, J.S., Gooding, W.E., Garraway, L.A., Lui, V.W.Y., Peyser, N.D., Grandis, J.R. (2014). Genomic analysis of head and neck squamous cell carcinoma cell lines and human tumours: a rational approach to preclinical model selection. *Mol.Cancer Res.*, 12, 571–582.
12. Varley, K.E., Gertz, J., Bowling, K.M., Parker, S.L., Reddy, T.E., Pauli-Behn, F., Cross, M.K., Williams, B.A., Stamatoyannopoulos, J.A., Crawford, G.E., Absher, D.M., Wold, B.J., Myers, R.M. (2013). Dynamic DNA methylation across diverse human cell lines and tissues. *Genome Res*, 23, 555–567.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Articole publicate în tematica tezei de doctorat:

1. **Georgiana Gabriela Petrică-Matei**, Viviana Roman, Mirela Mihăilă, Camelia Mia Hotnog, Lorelei I. Brașoveanu, Marinela Bostan. Role of p38-mitogen-activated protein kinase in modulation of the response to therapy in FaDu human pharyngeal carcinoma cell line. *Romanian Biotechnological Letters Journal*, 2017 (in press) (IF = 0.404)
2. **Georgiana Gabriela Petrică-Matei**, Florin Iordache, Răzvan Hainăroșie, Marinela Bostan. Characterization of the tumor cells from human head and neck cancer. *Rom J Morphol Embryol*, 2016, 57(2 Suppl): 1-9. (IF = 0.771).
3. Bleotu C, Popescu CR, Anton G, Pleșa A, Grigore R, Welt L, Aldea I, Dragușel R, Chivu M, **Matei G**, Cernescu C. Tracking down of laryngo-pharyngeal metastasis. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2011, 69(3):153-63. (CNCSIS B+).
4. Marinela. Bostan, **Georgiana Gabriela Matei**, D.A. Manu, V. Theodor, Lorelei I. Brașoveanu, Analysis of the effects after resveratrol treatment on cell cycle and apoptosis in tumor laryngeal cells. *Proceedings of the 2-nd European Congress of Immunology*, 2009. Editors Reinhold E. Schmidt MEDIMOND, pp.387-390.
5. **Georgiana-Gabriela Matei**, Marinela Bostan, D.A. Manu, Lorelei I. Brașoveanu, Study of the effects induced by some natural agents on apoptotic process in cell cultures derived from primary tumors of the larynx. *Studies and Researches in Virology*, 2009, Romanian Academy, (39): 34-39.

Articole publicate în afara tezei de doctorat:

1. Camelia Hotnog, Mirela Mihaila, Marieta Panait, **Georgiana Gabriela Petrica-Matei**, Viviana Roman, Maria Iuliana Gruia, Marinela Bostan, Lorelei I. Brasoveanu, Resveratrol modulates oxidative stress as well as apoptosis in drug-treated sw1116 colon cancer cells. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2017, 76 (1) (in press) (CNCSIS B+).
2. Magda Dulugiac, Ionela Horeangă, Andrei Torcatoru, Alexandru Bardaş, **Georgiana Matei**, Otilia Zărnescu, Factors which can influence the quality related to cell viability of the umbilical cord blood units. *Transfusion and Apheresis Science*, 2014, 51(3): 90 – 98. (IF = 1.230)
3. Dan Hotnog, Mirela Mihailă, Iulia Virginia Iancu, **Georgiana Gabriela Matei**, Camelia Hotnog, Gabriela Anton, Marinela Bostan, Lorelei I. Brașoveanu, Resveratrol modulates apoptosis in 5-fluorouracyl treated colon cancer cell lines. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2013, 72(4): 255-265. (CNCSIS B+).

4. Dan Hotnog, Mirela Mihailă, Anca Botezatu, **Georgiana Gabriela Matei**, Camelia Hotnog, Gabriela Anton, Marinela Bostan, Lorelei I. Braşoveanu, Genistein potentiates the apoptotic effect of 5-fluorouracyl in colon cancer cell lines. *Romanian Biotechnological Letters*, 2013, 18 (6): 8751-8761. (IF = 0.404).
5. L.I. Braşoveanu, M. Hirt, **G. Matei**, M. Bostan, L. Puiu, Stimuli modulation of apoptosis and proliferation through cell cycle phases in colon cancer cell lines, Proceedings of the 2nd European Congress of Immunology, Editors Reinhold E. SchmidtMEDIMOND, pp. 127-130, 2009.
6. M. Bostan, M. Hirt, **G.G. Matei**, Şt. Mărineaţă, L.I. Braşoveanu, The role of inflammatory factors in the regulation of neutrophil function in rheumatoid arthritis. *Studies and Researches in Virology*, 2007, Romanian Academy, vol. 37 (1), pg. 41-49.