



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

## Έρευνα της αντικαρκινικής δράσης νανοσωματιδίων $\text{SiO}_2$ μέσω μη-αποπτωτικών μονοπατιών προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου

**Συγγραφέας:** Κωνσταντίνα Πολυχρονίδου Χημικός Μηχανικός/Msc Οινολόγος, **Επιβλέποντες:** Καθηγήτρια Μαρία Γαζούλη, μεταδιδακτορικός φοιτητής Έκτωρ Κατιφελής

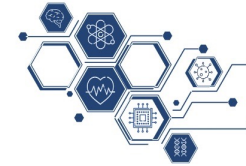
1Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

2Εργαστήριο Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Διοργανωτές

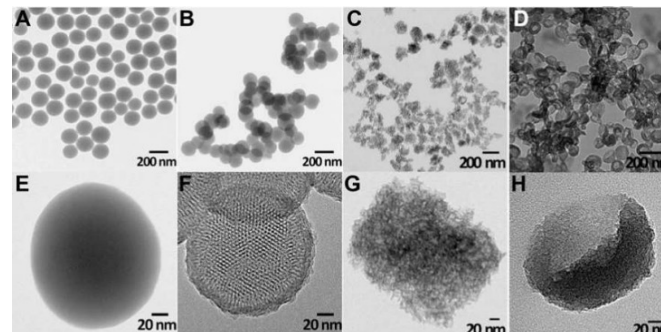


# 1. Εισαγωγή-Σκοπός



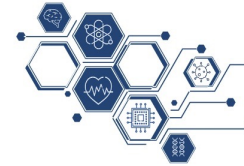
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Καρκίνος και **συμβατικές θεραπείες καρκίνου** (χημειοθεραπεία, χειρουργική επέμβαση και ακτινοθεραπεία λειτουργούν είτε ξεχωριστά είτε συνεργιστικά)
- **Το ενδιαφέρον των νανοϋλικών στην ιατρική:** Ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων παρενεργειών στις καρκινικές θεραπείες, καλύτερη επίτευξη στόχευσης των κυττάρων, δυνατότητες στην ιατρική απεικόνιση και στη θεραπεία διάφορων ασθενειών - καρκίνος, εκφυλιστικές ασθένειες, νοσήματα της καρδιάς, διαβήτης και ανίχνευση τοξινών
- **Σκοπός:** Έρευνα του προφίλ **τοξικότητας** των **νανοσωματιδίων  $\text{SiO}_2$**  σε φυσιολογικές και καρκινικές κυτταρικές σειρές καθώς και των **μηχανισμών** που εμπλέκονται



Εικόνες TEM των στερεών νανοσωματιδίων σίλικας Stöber (A, E), των μεσοπόρων νανοσωματιδίων σίλικας MCM-41 (B, F), των μεσοκυψελικών αφρώδων νανοσωματιδίων σίλικας (C, G) και των νανοσωματιδίων σίλικας παρόμοιων με εξωσώματα (D, H) (Πηγή Fang Chen et al, 2018).

## 2. Μέθοδοι και Υλικά



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

**Νανοσωματίδια  $\text{SiO}_2$**  : Μέθοδος σύνθεσης 'bottom-up'

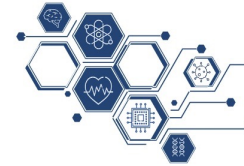
**Κυτταρική καλλιέργεια** : Φυσιολογική κυτταρική σειρά **HEK293** ανθρώπινης προέλευσης νεφρού, καρκινική κυτταρική σειρά **MDA-MB-231** ανθρώπινου τριπλά αρνητικού καρκίνου του μαστού (TNBC) και καρκινική κυτταρική σειρά **HepG2** ανθρώπινου ήπατος

**Μελέτες κυτταροτοξικότητας *in vitro*** : Δοκιμή MTT με νανοσωματίδια  $\text{SiO}_2$  σε διάφορες συγκεντρώσεις. Υπολογισμός βιωσιμότητας κυττάρων

**PCR Πραγματικού Χρόνου (Real-Time PCR) :**

- Εξαγωγή RNA και σύνθεση cDNA
- PCR Πραγματικού Χρόνου για διερεύνηση των αλλαγών στα γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση και την πυρόπτωση

## 2. Μέθοδοι και Υλικά



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- **Μελέτη Κυτταροτοξικότητας**

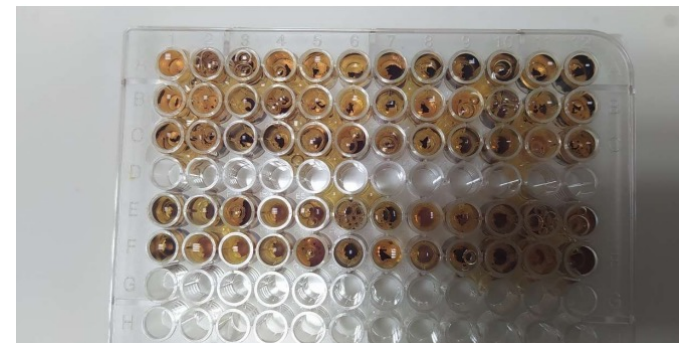
Διοχέτευση κυττάρων σε πλάκα 96 θέσεων, πύκνωση για 24 ώρες

Επώαση (24 ώρες) με τα νανοσωματίδια  $\text{SiO}_2$  σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

Δημιουργία φορμαζάνης που παράγεται από NADP(H) εξαρτώμενες αφυδρογονάσες

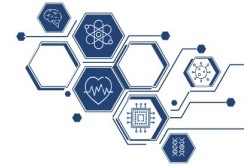
Μέτρηση απορρόφησης στα 550nm

Υπολογισμός της βιωσιμότητας των κυττάρων



*Πλάκα 96 θέσεων μετά την προσθήκη DMSO κατά τη διάρκεια της δοκιμής MTT και πριν από τη διάλυση των κρυστάλλων φορμαζάνης, υποδεικνύοντας μια εκτίμηση των ζωντανών κυττάρων πριν από την φασματοφωτομετρία*

## 2. Μέθοδοι και Υλικά

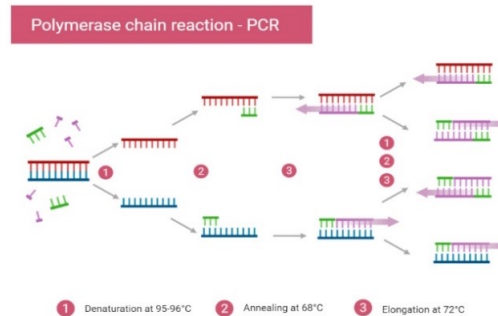
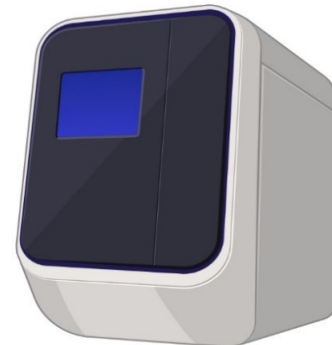


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- **PCR Πραγματικού Χρόνου**

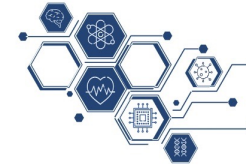
Έρευνα των αλλαγών στην έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την **απόπτωση** (κασπάση-3) και την **πυρόπτωση** (κασπάση-1) μετά από έκθεση σε νανοσωματίδια

### Real Time PCR / quantitative PCR (qPCR)



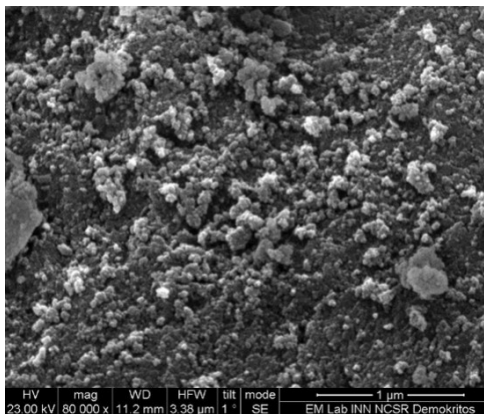
Πηγή [microbenotes.com](http://microbenotes.com)

### 3. Αποτελέσματα

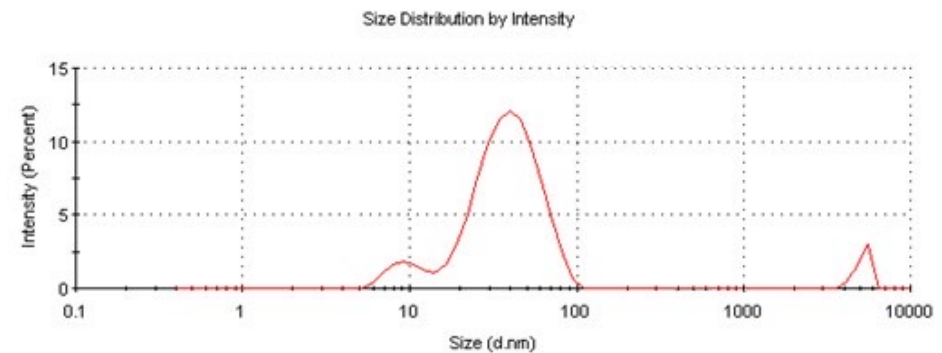


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων

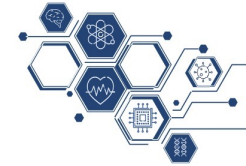


Μικροσκοπία TEM των νανοσωματιδίων πυριτίου, εικόνα από το Εθνικό Κέντρο Επιστημονικής Έρευνας "Δημόκριτος" στην Αθήνα



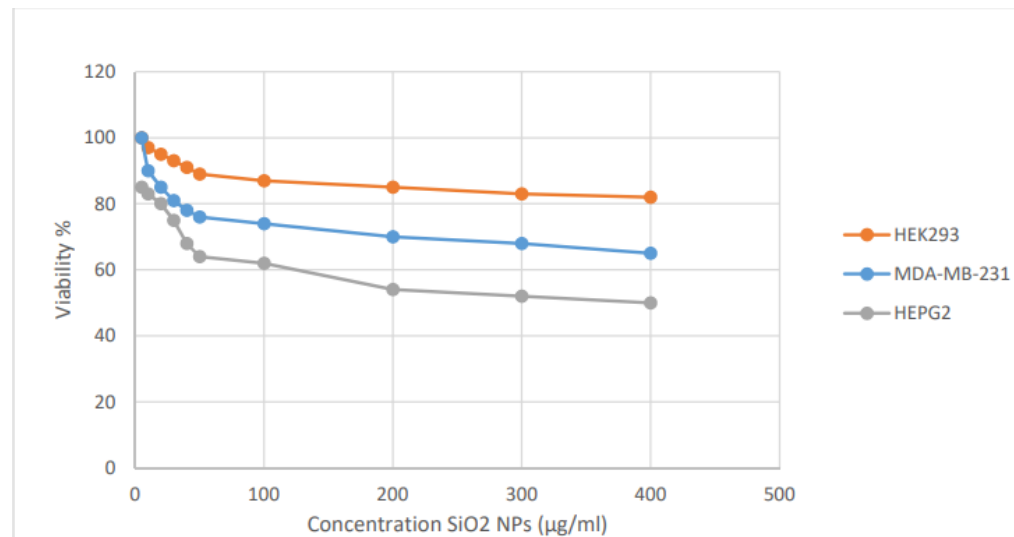
Διανομή μεγέθους των νανοσωματιδίων πυριτίου βάσει της έντασης, αποδεικνύοντας ότι το μέγεθός τους κυμαίνεται από 60 έως 70 nm (εμφανίζεται στην υψηλότερη ένταση)

### 3. Αποτελέσματα



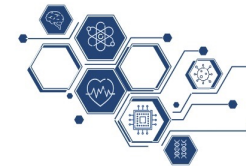
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Μελέτες κυτταροτοξικότητας



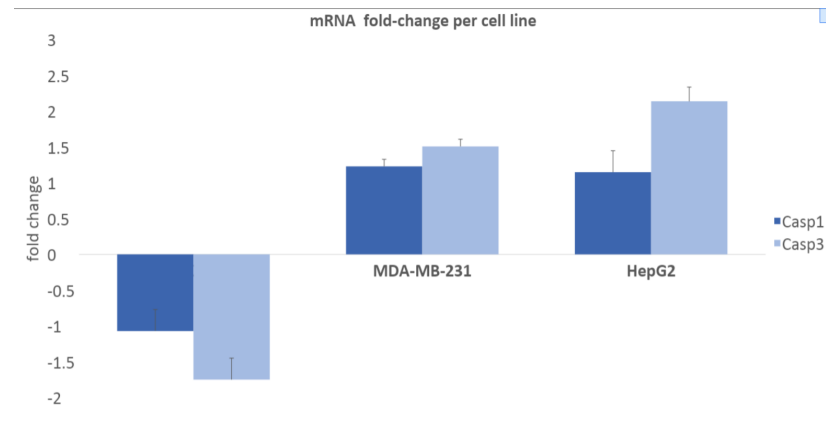
*Βιωσιμότητα που υποδεικνύει την κυτταροτοξικότητα των νανοσωματιδίων SiO<sub>2</sub> σε συγκεντρώσεις από 5 έως 400 µg/mL για τις καλλιέργειες των κυττάρων HEK293, MDA-MB-231 και HEPG2 που είναι υπό διερεύνηση*

### 3. Αποτελέσματα



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

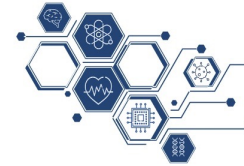
- Οι επιδράσεις των νανοσωματιδίων στα γονίδια της νεκρόπτωσης και της απόπτωσης



Ανάλυση της έκφρασης mRNA των γονιδίων CASP-1 και CASP-3 στις κυτταρικές καλλιέργειες MDA-MB-231 και HEPG2 μετά από έκθεση σε νανοσωματίδια (400μg/mL). Τα δεδομένα αναπαριστούν τη μέση τιμή και εμφανίζονται με τυπική απόκλιση, ενώ τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε διπλότυπο



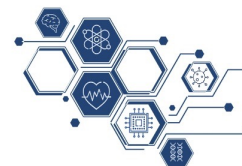
## 4. Συμπεράσματα



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

- Απόδειξη της δόσοεξαρτώμενης κυτταροτοξικότητας, με υψηλότερη τοξικότητα για την καρκινική κυτταρική σειρά HepG2
- **30% απόκλιση** μεταξύ των κυττάρων HepG2 και HEK293, καθώς και **50% μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων** για τη κυτταρική σειρά HepG2 θεωρούνται υψηλά, αλλά απαιτείται περαιτέρω έρευνα
- Σε **συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων υψηλότερες από 200μg/mL**, η βιωσιμότητα των κυττάρων δεν μειώνεται με υψηλό ρυθμό για τις καρκινικές σειρές. Όσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωση νανοσωματιδίων, τόσο μειώνεται το ποσοστό βιωσιμότητας των **υγιών κυττάρων** με ρυθμό περίπου 3% για κάθε αύξηση 100μg/mL έκθεσης στα νανοσωματίδια
- Τα νανοσωματίδια SiO<sub>2</sub> μπορούν να επιφέρουν **απόπτωση**, πράγμα που είναι ενθαρρυντικό για περαιτέρω έρευνα, αλλά δεν ενεργοποιούν την πυρόπτωση

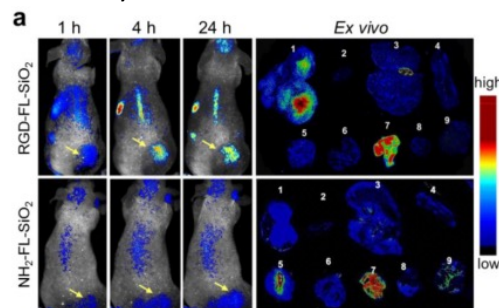
## 4. Συμπεράσματα



1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:  
Καινοτομίες και Προοπτικές  
22-23 Σεπτεμβρίου 2023

### Μελλοντικές προοπτικές:

- Η χρήση **επιπλέον κυτταρικών σειρών** μπορεί να βοηθήσει στην ανεύρεση σειρών ευαίσθητων στην τοξικότητα των  $\text{SiO}_2$
- Διάφορες πειραματικές μέθοδοι θα ήταν ωφέλιμες για να εξασφαλιστούν οι βέλτιστες θεραπείες. Περαιτέρω διερεύνηση των υποκείμενων μοριακών προτύπων (molecular patterns), για παράδειγμα ερευνώντας την **έκκριση της Il1b** (συνδεδεμένη με την κασπάση-1) με χρήση της μεθόδου **ELISA**
- *In vivo* έρευνα της αντικαρκινικής δράσης των νανοσωματιδίων  $\text{SiO}_2$  σε μοντέλα ζώων (για παράδειγμα, η ξενομεταμόσχευση (xenograft) σε ποντίκια SCID)



Αποτελέσματα εικόνας *in vivo* και *ex vivo*. Τα νανοσωματίδια RGD-FL- $\text{SiO}_2$  και  $\text{NH}_2$ -FL- $\text{SiO}_2$  ενεργοποιήθηκαν με ενδοφλέβια ένεση σε ποντίκια που φέρουν όγκο U87MG. (Πηγή: Hongmin Chen et.al)