

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

Μελέτη των αντικαρκινικών ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων Fe_3O_4 με κέλυφος $\text{Ag}(\text{Au})$ μέσω της υπερθερμίας σε καρκινικές και υγιείς κυτταρικές σειρές.

Γραμματικάκη Σταματική¹, Κατηφελής Έκτορας¹, Κουλουρίας Βασίλειος², Γαζούλη Μαρία¹

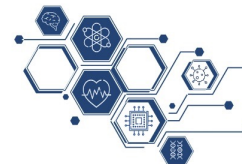
¹ Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ελλάδα

² Β' Εργαστήριο Ακτινολογίας, Αττικό Νοσοκομείο, Αθήνα, Ελλάδα

Διοργανωτές



1. Εισαγωγή-Σκοπός



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

Εισαγωγή: Τα μαγνητικά νανოსωματιδία (όπως τα οξείδια του σιδήρου Fe_3O_4) σε συνδυασμό με τα ευγενή μέταλλα αποτελούν ένα εντατικό πεδίο έρευνας για την αντιμετώπιση του καρκίνου, τα τελευταία χρόνια. Ωστόσο, παραμένει μείζον ζήτημα η διερεύνηση των δυνατοτήτων στόχευσης, του θεραπευτικού δυναμικού τους καθώς και της σταθερότητάς τους *in vitro/vivo* προκειμένου να μπορούν να εφαρμοσθούν επιτυχώς στην κλινική πράξη.

Γιατί τα οξείδια του σιδήρου;

Καλύτερη βιοσυμβατότητα, μικρότερη πιθανότητα δημιουργίας συσσωματωμάτων, μαγνητικές ιδιότητες κατάλληλες για αντικαρκινικές θεραπείες

Δομή *core-shell* : το υλικό του πυρήνα καλύπτεται από διαφορετικά υλικά του κελύφους είτε για λόγους προστασίας είτε για τη μείωση της τοξικότητας των NPs του πυρήνα

Μέθοδος Υπερθερμίας: διασπορά μαγνητικών νανოსωματιδίων στον ιστό-στόχο μέσω της αύξησης της θερμοκρασίας από τις θερμικές ταλαντώσεις.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη των αντικαρκινικών ιδιοτήτων των υπερθερμικών νανოსωματιδίων Fe_3O_4 με κέλυφος Ag(Au) σταθεροποιημένα σε τρυπτοφάνη σε καρκινικές και φυσιολογικές κυτταρικές σειρές. Παράλληλα, σημαντικό στόχο αποτελεί η διερεύνηση του υποκείμενου μοριακού μηχανισμού της δράσης τους μέσω της εκτίμησης της γονιδιακής έκφρασης των γονιδίων *hsp-70*, *p53*, *bcl-2* και *casp-3*.

2. Μέθοδοι και Υλικά



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

Κυτταρικές σειρές:

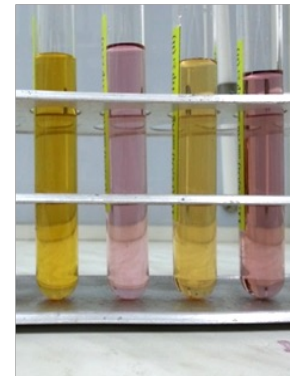
1. Hek293 : υγιή εμβρυικά κύτταρα του νεφρού
2. HCT116: καρκινικά κύτταρα του εντέρου
3. 4T1: καρκινικά κύτταρα του μαστού
4. HUH7: καρκινικά ηπατικά κύτταρα

Νανοσωματίδια:

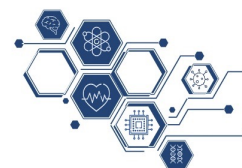
1. Fe_3O_4
2. Fe_3O_4 core Ag shell
3. Fe_3O_4 core Au shell

	200$\mu\text{g}/\text{ml}$
	400$\mu\text{g}/\text{ml}$
	600$\mu\text{g}/\text{ml}$

$\text{Fe}_3\text{O}_4(\text{I})$ $\text{Fe}_3\text{O}_4(\text{II})$



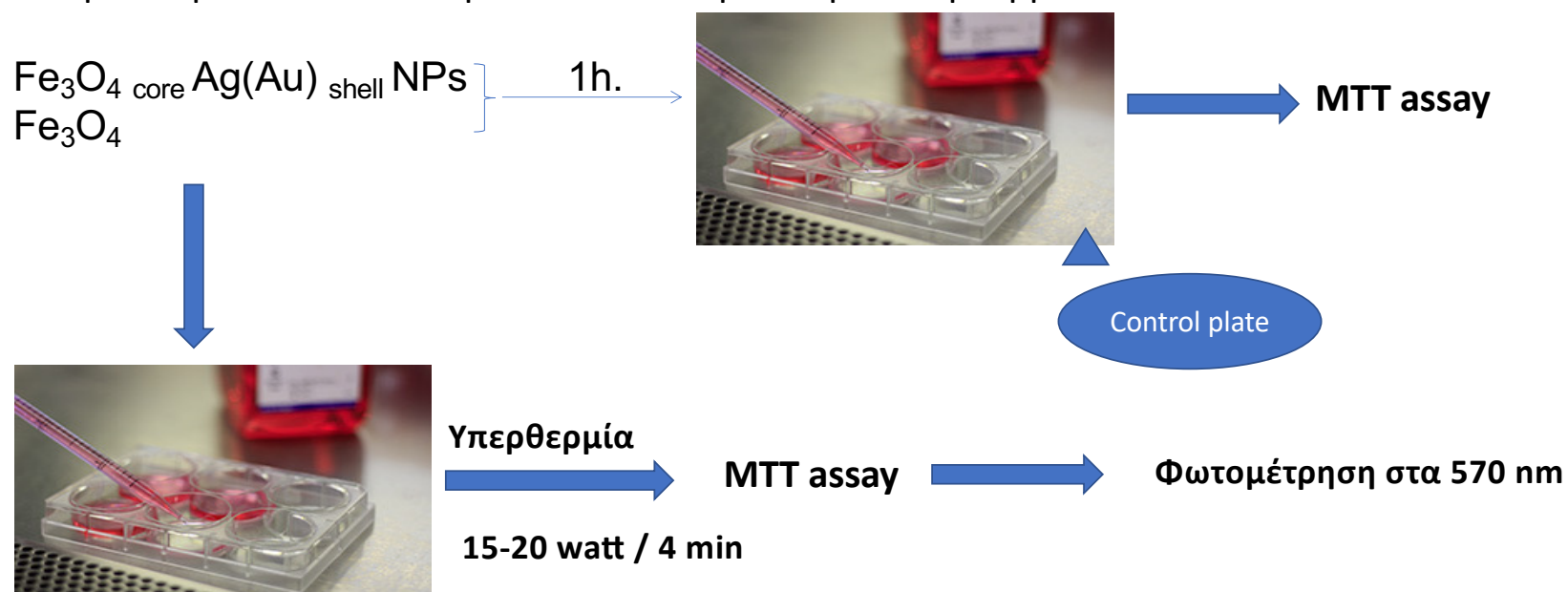
2. Μέθοδοι και Υλικά



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

□ Για την μελέτη της κυτταρικής βιωσιμότητας:

✓ Προετοιμασία των κυττάρων σε 24-well plates για υπερθερμία

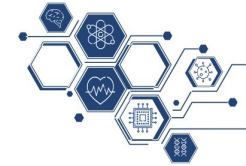


□ Για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης:

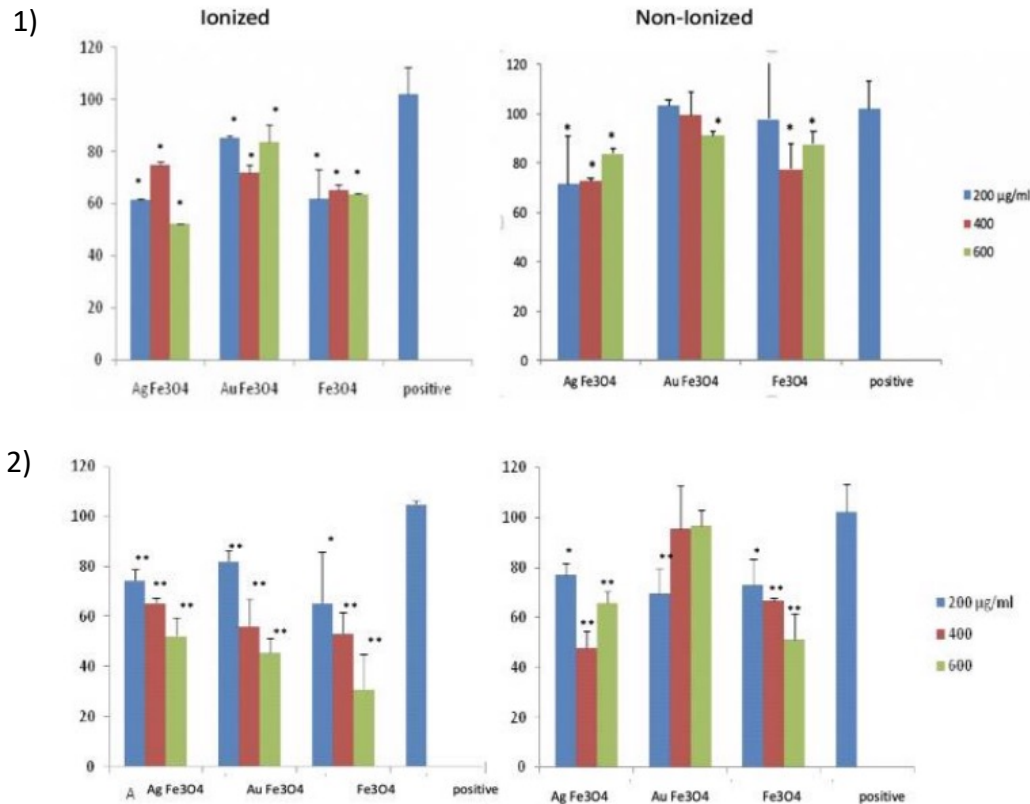
✓ RNA απομόνωση από τις κυτταρικές σειρές των ακτινοβολημένων και μη (control) plates

✓ Real time-PCR για τα αποπτωτικά γονίδια *p53*, *casp-3*, *bcl-2* και του γονιδίου *hsp-70*.

3. Αποτελέσματα



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

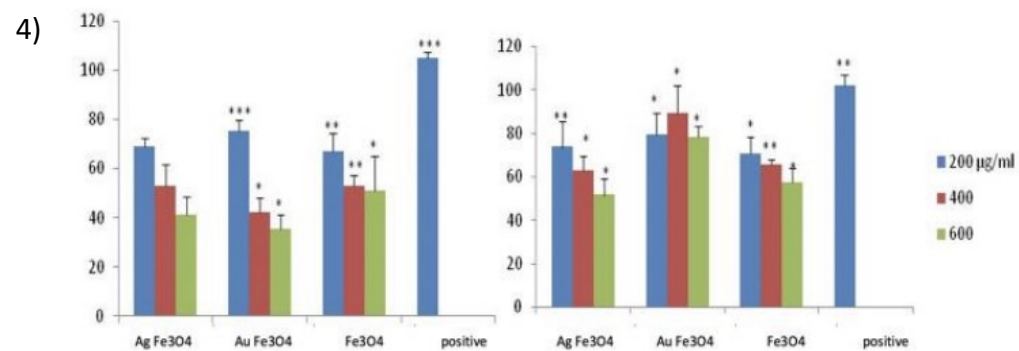
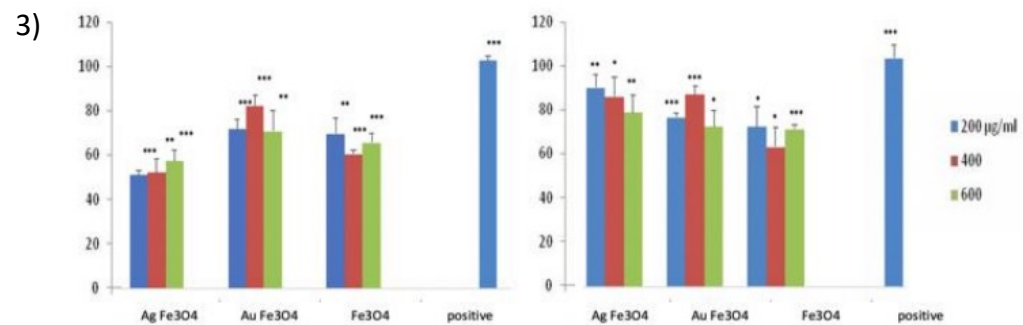


Αποτελέσματα της βιωσιμότητας στις κυτταρικές σειρές 1) hek293 2) hct116 3) 4T1 4) huh7. Τα αριστερά γραφήματα αφορούν τα αποτελέσματα της δοκιμασίας MTT με διαφορετικές συγκεντρώσεις NPs έπειτα απο την δράση της υπερθερμίας ενώ τα γραφήματα στα δεξιά αντιπροσωπεύουν τα control plates χωρίς την επίδραση της υπερθερμίας.

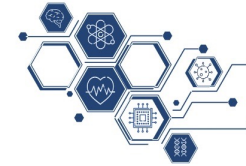
3. Αποτελέσματα



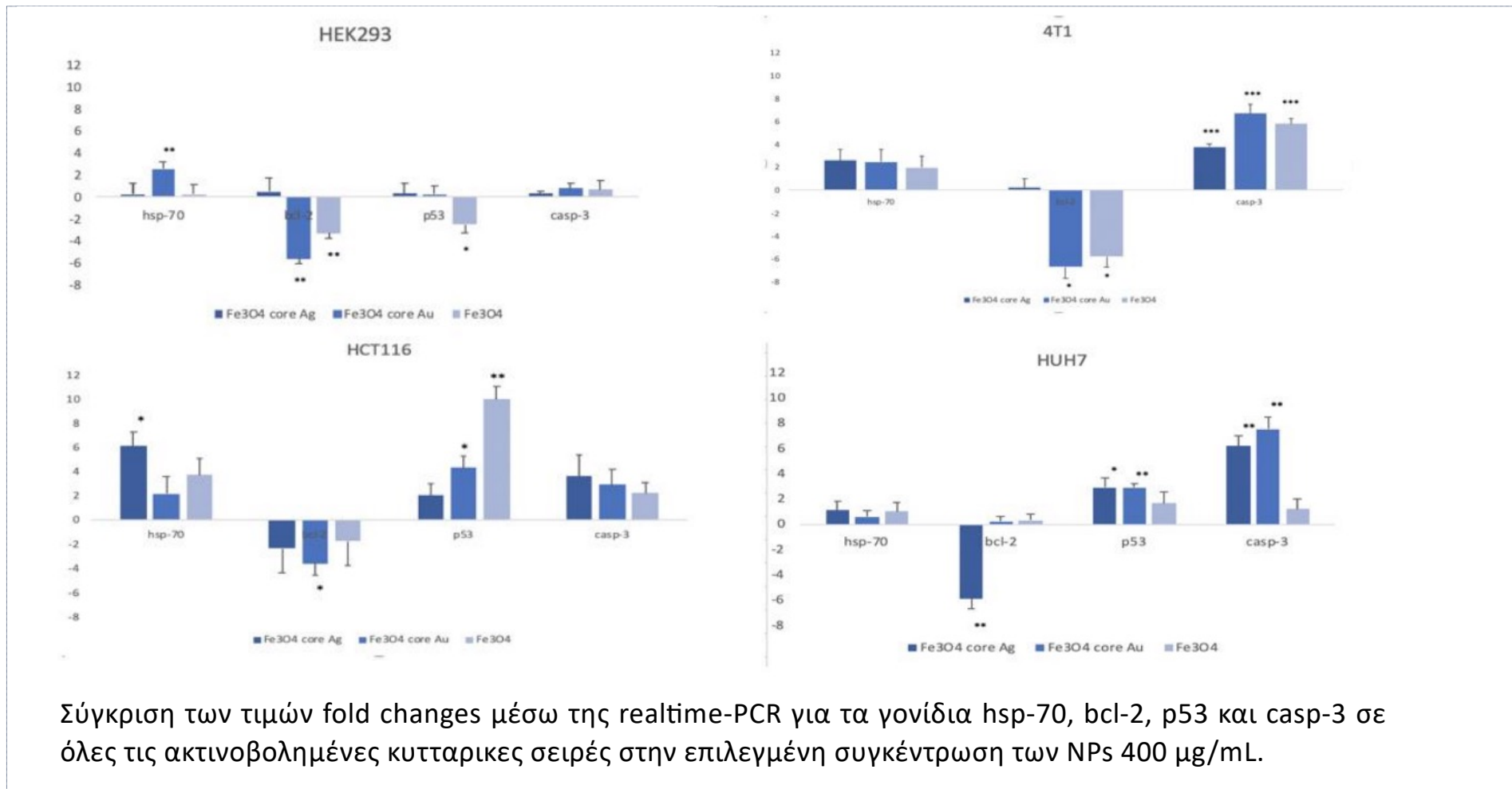
1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023



3. Αποτελέσματα

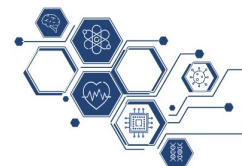


1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φυσικών Επιστημών στην Υγεία:
Καινοτομίες και Προοπτικές
22-23 Σεπτεμβρίου 2023



Σύγκριση των τιμών fold changes μέσω της realtime-PCR για τα γονίδια hsp-70, bcl-2, p53 και casp-3 σε όλες τις ακτινοβολημένες κυτταρικές σειρές στην επιλεγμένη συγκέντρωση των NPs 400 µg/mL.

4. Συμπεράσματα



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

Απο τα αποτελέσματα της MTT δοκιμασίας παρατηρούμε ότι:

- Τα Fe_3O_4 core Au shell NPs στις συγκεντρώσεις 400 και 600 $\mu g/ml$ προτείνονται ως υπερθερμικά εργαλεία καθώς *in vitro* αυξάνουν την τοξικότητα των καρκινικών κυττάρων (κυρίως των 4T1 και HCT116) ελαχιστοποιώντας αυτή των μη καρκινικών κυττάρων HEK293.

- Μικρή τοξική δράση των NPs στα υγιή κύτταρα HEK293 με σχεδόν 80% βιωσιμότητα.

- Fe_3O_4 core Ag shell NPs: δεν μεταβάλλουν ιδιαίτερα την τοξικότητα των καρκινικών κυττάρων ύστερα από την επίδραση της υπερθερμίας, πιθανόν λόγω της ίδιας της τοξικότητας των AgNPs

Απο την ανάλυση της γονιαδικής έκφρασης:

- Αύξηση της έκφρασης του γονιδίου *hsp-70* με μεγαλύτερη έκφραση στα 4T1 και HCT116, χαμηλότερη στα HUH7 και σχεδόν καμία διαφορά στα HEK293.

- Αύξηση των επιπέδων έκφρασης των αποπτωτικών γονιδίων *p53* και *casp-3* σε όλες τις καρκινικές κυτταρικές σειρές εκτός από τα υγιή HEK293.

- Η αύξηση της έκφρασης των γονιδίων *hsp-70*, *p53* και *casp-3* και η ταυτόχρονη υποέκφραση του *bcl-2* οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα υπερθερμικά νανοσωματίδια Fe_3O_4 Ag(Au) επάγουν την απόπτωση στις περισσότερες κυτταρικές σειρές.