



Kermanshah
University of
Medical Sciences

عنوان:

استخراج و مشخصه یابی
اگزوزوم‌های مشتق از گلبرگ
زعفران و بررسی نقش آن‌ها در
مهاجرت سلولی

شماره طرح:
4040123

نام و نام خانوادگی:
دکتر لیلا رضاخانی

مرکز تحقیقات باروری و
ناباروری

اگزوزوم‌ها و وزیکول‌های خارج‌سلولی گیاهی طی سال‌های اخیر به‌عنوان نانوساختارهای زیستی طبیعی و کم‌خطر، به‌ویژه در حوزه درمان‌های سرطان، توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده‌اند. این نانوزیکول‌ها قادرند مولکول‌های فعال زیستی گیاه، شامل پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را در ساختار خود حمل کنند و آن‌ها را به سلول‌های هدف منتقل سازند. گلبرگ زعفران، که به‌طور معمول به‌عنوان یک دورریز کشاورزی در نظر گرفته می‌شود، سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و زیست‌فعال گزارش شده و بنابراین می‌تواند منبعی مناسب برای استخراج وزیکول‌های خارج‌سلولی با پتانسیل کاربرد در درمان‌های زیستی باشد. از سوی دیگر، در سرطان پستان به‌ویژه نوع تهاجمی MDA-MB-231، فرایندهایی مانند تکثیر کنترل‌نشده، مهاجرت، استرس اکسیداتیو و مقاومت سلولی نسبت به درمان‌ها نقش محوری دارند؛ از این‌رو بررسی تأثیر نانوساختارهای طبیعی بر رفتار این سلول‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد. مطالعه حاضر با تمرکز بر استخراج، شناسایی و ارزیابی ویژگی‌های وزیکول‌های خارج‌سلولی حاصل از گلبرگ زعفران، به بررسی اثرات زیستی احتمالی این نانوذرات بر سلول‌های سرطانی می‌پردازد و تلاش می‌کند درک روشن‌تری از قابلیت‌های درمانی بالقوه آن‌ها در زمینه سرطان فراهم سازد.

وزیکول‌های خارج‌سلولی (EVs) از گلبرگ‌های زعفران با استفاده از روش سانتریفیوژ چندمرحله‌ای تفاضلی و بر پایه ی پلیمرجداسازی شده و در بافر PBS معلق شدند. مورفولوژی EVها با میکروسکوپ الکترونی FE-SEM بررسی شد، توزیع اندازه آن‌ها با استفاده از DLS اندازه‌گیری گردید، و پتانسیل زتا و غلظت پروتئین با روش‌های استاندارد، از جمله آزمون BCA، تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز با استفاده از آزمون FRAP در غلظت‌های 0.1، 0.5 و 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر سلول‌های سرطانی پستان انسانی MDA-MB-231 ارزیابی شد.

آنالیزهای مشخصه‌یابی تأیید کردند که وزیکول‌های خارج‌سلولی استخراج‌شده از گلبرگ‌های زعفران دارای مورفولوژی کروی تا بیضوی و ابعاد نانومقیاس هستند؛ به‌طوری‌که تصاویر FE-SEM اندازه‌ی متوسط 58.37 ± 12.92 نانومتر را نشان داد و نتایج DLS نیز توزیعی در بازه‌ی 80 تا 140 نانومتر گزارش کرد. این وزیکول‌ها دارای بار سطحی منفی بودند (پتانسیل زتا: -12.2 میلی‌ولت) و مقدار قابل اندازه‌گیری پروتئین (11.5 میکروگرم بر میلی‌لیتر) را بیان می‌کردند. ارزیابی اثرات زیستی EVها بر رده سلولی سرطان پستان انسانی MDA-MB-231 یک الگوی واضح وابسته به دوز را در ایجاد سمیت سلولی نشان داد. تحلیل MTT بیان کرد که تیمار با غلظت 0.5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باعث کاهش قابل توجه زنده‌مانی سلول‌ها شد، به‌طوری‌که فقط حدود نیمی از سلول‌های سرطانی زنده ماندند؛ در حالی که غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر این اثر مهاری را بیشتر تقویت کرد. تیمار با EV در هیچ‌یک از غلظت‌ها موجب افزایش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی نشد. نتایج آزمون مهاجرت سلولی (scratch assay) نیز اثر مهاری EVها بر رفتار سلول‌های سرطانی را تأیید کرد. اگرچه سلول‌های MDA-MB-231 معمولاً توانایی مهاجرت سریعی دارند، تیمار با EVها موجب کاهش توانایی ترمیم خراش در مقایسه با کنترل بدون تیمار شد که نشان‌دهنده‌ی مهار مهاجرت پس از قرارگیری در معرض EVها است. به‌طور کلی، این نتایج نشان می‌دهد که وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از گلبرگ‌های زعفران دارای اثرات سیتوتوکسیک و مهارکننده مهاجرت بر سلول‌های سرطانی MDA-MB-231 هستند.