اولین همایش ملی گیاهان دارویی، کارآفرینی و تجاری سازی
۱۹ و ۲۰ آبان ۱۴۰۰
MPEC 2021
1st National Conference on Medicinal Plants, Entrepreneurship and Commercialization
10-11th Nov. 2021 University of Jiroft
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه جیرفت

بررسی اثر سمیت سلولی داربست پلی کاپرولاکتون پوشش داده شده با عصاره الکلی دانه گیاه گل مغربی بر سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسانی

سحرجعفری[۱]، محمدنبیونی[۲]*، هانیه جلالی[۳]

۱- دانشجوی ارشد علوم سلولی مولکولی، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی مولکولی، تهران، ایران
۲- استاد، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی مولکولی، تهران، ایران
۳- استادیار، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری، تهران، ایران
*آدرس پست الکترونیکی نویسنده مسئول: nabiuni@khu.ac.ir

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر سمیت سلولی داربست پلی کاپرولاکتون تهیه شده با روش الکتروریسی و پوشش دهی شده با غلظت های مختلف عصاره الکلی دانه گیاه گل مغربی بر سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسان می باشد. ترکیبات فعال زیستی مانند پلی فنول ها و فلاونوئیدها بر تکثیر و رشد سلول های بنیادی مزانشیمی تأثیر می گذارند. داربست پلی کاپرولاکتون (PCL)پوشش داده شده با عصاره الکلی دانه گل مغربی در غلظت های (۱،۲،۳،۴،۵ و ۶ درصد) دارای تأثیرات مثبت بر تکثیر و رشد سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسان شد که تاییدکننده عدم سمیت داربست در این غلظت ها برای کشت سلول های بنیادی بود. با توجه به مطالعه انجام شده میتوان نتیجه گرفت که داربست پوشش داده شده با عصاره در تکثیر سلولی وابسته به میزان غلظت است و در غلظت های پایین تر از IC50 دارای تأثیرات مثبت بر روند تکثیر و بقا سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان انسانی می باشد.

مقدمه

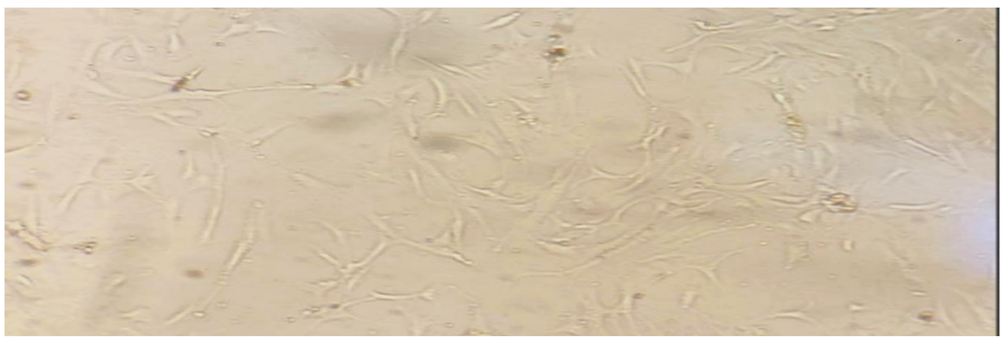
گل مغربی با نام علمی *(Oenothera biennis)* نوعی گیاه دارویی و متعلق به خانواده Onagraceaeاست. دانه گل مغربی حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب، ترکیبات فنولی، استرول، تریترپنوئیدها، استرها، الکل و ترکیبات استروژنی است (Granica et al., 2013). یکی از اجزای اصلی پزشکی بازساختی استراتژی مهندسی بافت است که به منظور یازسازی، جایگزینی و حفظ عملکرد بافت آسیب دیده از فرآورده های زیستی استفاده می کند (Sahraei et al., 2019). پوشش دهی عصاره‌های گیاهی بر سطح داربست می‌تواند تغییرات متعددی را در خصوصیات فیزیکوشیمیایی سطح پلیمر وارد کند و بر فعالیت بیولوژیکی آن تأثیر بگذارد. پوشش‌دهی ترکیبات گیاهی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی هستند با دوهدف بهبود خواص مکانیکی داربست های شکننده و ارائه خواص ضد باکتریایی اعمال می‌شود (Arango-Ospina et al., 2021). توانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) برای تمایز به انواع مختلف سلول‌ها و تعدیل پاسخ‌های ایمنی، آن‌ها را به یک ابزار درمانی جذاب برای پیوند سلولی و مهندسی بافت تبدیل می-کند (O'Brien et al., 2013).

مواد و روش ها

سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسان، در پاساژ دوم از بانک سلولی مرکز سلول درمانی پژوهشگاه رویان تهیه شد. برای تهیه داربست پلی کاپرولاکتون به روش الکتروریسی محلول پلیمری ۲۰ درصد (w/v) پلی کاپرولاکتون با جرم مولکولی۸۰۰۰ (سیگما امریکا) ۲۵۰ گرمی در حلال دی متیل فرم آمید حل شد. از دستگاه پلاسما خلا جهت بهبود اتصال سلول به سطح داربست پلی کاپرولاکتون مورد استفاده قرار گرفت. در حجم نهایی ۳۰۰۰ میکرولیتر، غلظت‌های (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸ و ۱۰ درصد) بر روی داربست استریل پوشش داده شدند. تعیین غلظت ۵۰ درصد کشندگی (IC50%) داربست PCL پوشش داده شده با عصاره الکلی دانه گل مغربی در سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان با غلظت های مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت. پوشش‌ها پس از تیمار سطح پلیمر داربست‌ها با پلاسما، در مقادیر مختلف اعمال شد. برای تعیین درصد زنده مانی غلظت‌های (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۸ و ۱۰ درصد) پوشش دهی شده بر روی داربست در حجم نهایی ۳۰۰۰میکرولیتر تست MTT در روز ۷ سنجیده شد. نتایج به دست توسط نرم افزار SPSS. 21 و آزمون one way ANOVA آنالیز شده و تغییرات آماری در سطح کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار فرض شد.

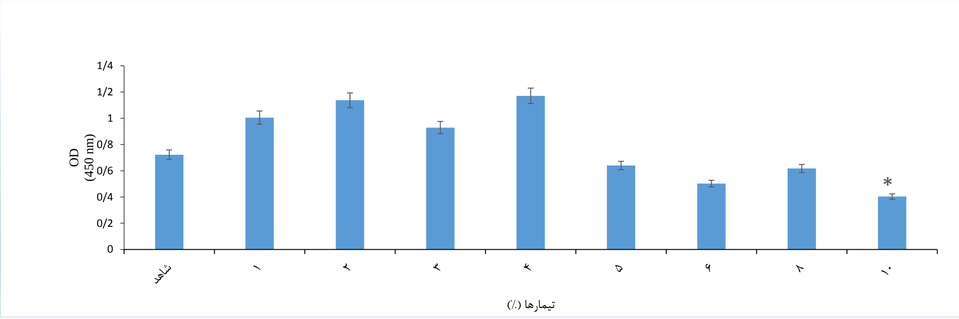
نتایج و تحلیل

نتایج بررسی ساختار سلول ها در زیر میکروسکوپ نشان داد سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان دارای ویژگی چسبندگی به کف بوده و ظاهری دوکی شکل و زواید کشیده داشتند(شکل ۱).



شکل ۱. مورفولوژی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسان قبل از تأثیر داربست پوشش دهی شده با عصاره گیاهی، بزرگنمایی x۱۰

اساس نمودار زیر، در تست MTT برای بررسی سمیت سلولی داربست پوشش دهی شده با غلظت های مختلف عصاره الکلی دانه گیاه گل مغربی OD بزرگتر از ۰/۶ برای سلول های بنیادی مزانشیمی کشت داده شده در مقایسه با کنترل تایید کننده عدم سمیت داربست برای کشت سلول بود. از نقطه نظر سمیت سلولی، نتایج بررسی ما نشان داد که اثر کشندگی سلول ها ,وابسته به غلظت است، به طوری که مقدار IC50 محاسبه شده در غلظت ۱۰ درصد نشان داد که ۵۰ درصد رشد سلول ها نسبت به کنترل متوقف شده است و نشان دهنده قدرت کشندگی این عصاره است(شکل ۲).



شکل ۲. تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان انسانی پس از ۷روز تیمار با داربست پوشش دهی شده با عصاره الکلی دانه گیاه گل مغربی با استفاده از تست MTT. علامت * نشان دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح کمتر از ۰/۰۵است.

نتیجه گیری

داربست پلی کاپرولاکتون تهیه شده با روش الکتروریسی و پوشش دهی شده با عصاره الکلی دانه گیاه گل مغربی در تکثیر سلولی وابسته به میزان غلظت است و در غلظت های پایین تر از IC50 داربست زیست سازگار بوده و محیط مساعدی جهت رشد سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، فراهم می کند.

منابع

O'Brien, C. A., Nakashima, T., & Takayanagi, H. (2013). Osteocyte control of osteoclastogenesis. Bone, 54(2), 258-263.

Granica, S., Czerwińska, M. E., Piwowarski, J. P., Ziaja, M., & Kiss, A. K. (2013). Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of Oenothera biennis L. and Oenothera paradoxa Hudziok obtained after seeds cultivation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(4), 801-810.

Sahraei, S. S., Kalhor, N., & Sheykhhasan, M. (2019). Application of scaffolds in cartilage tissue engineering: a review paper. Razi Journal of Medical Sciences, 26(8), 42-55.

Arango-Ospina, M., Lasch, K., Weidinger, J., & Boccaccini, A. R. (2021). Manuka honey and zein coatings impart bioactive glass bone tissue scaffolds antibacterial properties and superior mechanical properties. Frontiers in Materials, 7, 449.