

چکیده پایان نامه شماره 26292 دکتری حرفه ای دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه.

سال تحصیلی 1403-1404

نگارنده : محمدرضا رمضانی ملادهی

عنوان پایان نامه : بارگذاری همزمان بربرین و هسپریدین توسط نانوذرات پلی (لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید) و تعیین اثرات آن بر زنده مانی و القای آپوپتوز در سلولهای سرطانی.

سرطان پروستات همچنان یکی از دلایل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در بین مردان است که ضرورت توسعه رویکردهای درمانی جدید را نشان می‌دهد. اخیراً استفاده از عوامل درمانی با منشاء طبیعی به ویژه فیتوکمیکال‌ها از جمله هسپریدین و بربرین به طور فزاینده ای به عنوان یک استراتژی امیدوار کننده برای جلوگیری از بدخیمی شدن و درمان سرطان در نظر گرفته می‌شوند. علی‌رغم فواید سلامتی مرتبط با بربرین و هسپریدین، دستیابی به نتایج درمانی مؤثر وابسته به بهبود خواص فارماکوکینتیک این ترکیبات پس از مصرف خوراکی است. از این رو، مطالعات اخیر بر روی نانوتکنولوژی برای توسعه سیستم‌های دارورسانی جدید متمرکز شده‌اند. از این رو، در این مطالعه به بررسی محصورسازی همزمان بربرین و هسپریدین در نانوذرات پلی (لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید) (PLGA) و ارزیابی اثرات آن‌ها بر بقاء و القای آپوپتوز در سلولهای سرطان پروستات پرداخته شد. نانوذرات حاوی هسپریدین، نانوذرات حاوی بربرین و نانوذرات حاوی هر دو ماده در نصف غلظت مورد استفاده با استفاده از روش امولسیون دوگانه-تبخیر حلال (W/O/W) سنتز شدند. نانوذرات تولیدی از نظر اندازه، شاخص پراکندگی، مورفولوژی، بازده کپسوله‌سازی و پروفایل رهش دارو مشخصه یابی شدند. سلولهای سرطان پروستات (LNCaP) کشت داده شده و با غلظت‌های مختلفی از نانوذرات حاوی بربرین، نانوذرات حاوی هسپریدین و نانوذرات حاوی هر دو ماده هسپریدین و بربرین تیمار شدند. سمیت سلولی نانوذرات تولیدی توسط آزمون MTT و LDH ارزیابی شد. میزان بروز آپوپتوز و نکروز با استفاده از فلوسایتومتری و رنگ‌آمیزی Annexin V/PI مورد بررسی قرار گرفت. میزان بیان ژنهای درگیر در مسیر آپوپتوز به روش qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر سه نوع نانوذره تولیدی، میانگین قطر زیر 200 نانومتر، توزیع اندازه یکنواخت و زیر 0/1 و بازده کپسوله‌سازی مطلوبی را از خود نشان دادند. همانطور که با آزمون MTT نشان داده شد، تیمار با نانوذرات نسبت به فرم آزاد هسپریدین و بربرین منجر به کاهش قابل توجهی در زنده‌مانی سلولی به صورت وابسته به دوز گردید

بیشترین اثر سمیت سلولی مربوط به گروه نانوذرات ترکیبی (در غلظت $35/2 \pm 43/52$ میکروگرم بر میلی لیتر) ، نانوذرات بربرین به همراه دوکسوروبیسین (در غلظت $37/43 \pm 3/6$ میکروگرم بر میلی لیتر) و گروه نانوذرات ترکیبی به همراه دوکسوروبیسین (در غلظت $22/67 \pm 2/05$ میکروگرم بر میلی لیتر) بود. آنالیز فلوسایتومتری ، افزایش جمعیت سلولهای آپوپتوتیک را پس از تیمار با نانوذرات، نسبت به فرم آزاد هسپریدین و بربرین نشان داد همچنین نتایج نشان داد که بربرین نسبت به هسپریدین چه در فرم آزاد و چه در فرم نانو درصد القای آپوپتوز بیشتری داشت. استفاده از این دو ماده به همراه هم، درصد سلولهای آپوپتوتیک را بیشتر افزایش داد و این درصد نیز با استفاده همزمان نانوذرات ترکیبی با دوکسوروبیسین مجدداً افزایش یافت. در تست کلونوژنیک، تیمار با تمام گروههای درمانی باعث کاهش توانایی تشکیل کلنی نسبت به گروه کنترل در سلولهای رده LNCaP شد. اما به طور کلی میتوان گفت بربرین نسبت به هسپریدین، نانوذرات نسبت به فرم آزاد، و گروههای ترکیبی نسبت به تکی، بیشتر باعث مهار تشکیل کلنی گردیدند. در ارزیابی LDH، سطح LDH در مایع رویی تمام سلولهای تحت تیمار افزایش یافت. اما بیشترین درصد سایتوتوکسیسیتی بر علیه سلولهای LNCaP مربوط به نانوذرات ترکیبی به همراه دوکسوروبیسین و نانوذرات بربرین به همراه دوکسوروبیسین بود. نتایج نشان داد که تمامی گروههای درمانی در آپوپتوز سلولهای LNCaP با القای فعالیت کاسپاز-3 در سلولهای تیمار شده در مقایسه با سلولهای تیمار نشده نقش داشتند. با این حال نانوذرات ترکیبی به همراه دوکسوروبیسین باعث افزایش $2/35$ ، نانوذرات ترکیبی افزایش $2/05$ برابری و نانوذرات بربرین به همراه دوکسوروبیسین باعث افزایش $1/92$ برابری در سطوح کاسپاز 3 در مقایسه با گروه کنترل شدند. نتایج PCR نیز نشان داد بربرین نسبت به هسپریدین، نانوذرات نسبت به فرم آزاد، و گروههای ترکیبی نسبت به تکی، بیشتر باعث افزایش بیان ژن BAX (پرو-آپوپتوز) و کاهش بیان ژن Bcl-2 (ژن آنتی-آپوپتوز) گردیدند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات PLGA حاوی بربرین و هسپریدین پتانسیل بالایی را به عنوان یک استراتژی درمانی برای درمان سرطان پروستات دارند و رویکرد دوگانه‌ای را برای کاهش زنده‌مانی سلولی و ترویج آپوپتوز ارائه می‌دهند. برای تأیید این نتایج و بررسی کامل پتانسیل درمانی این فرمولاسیون نانوذرات، مطالعات بیشتر آزمایشگاهی و کارآزمایی‌های بالینی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: بربرین- هسپریدین- پلی لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید- سرطان