

Systemic Transplantation Effect of Human Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells on Cognitive Deficits and Hippocampal Antioxidant Capacity in Trimethyltin Model of Alzheimer's Disease

Mohammad Amin Edalatmanesh^{1*} , Samireh Nemati¹, Habibollah Khodabandeh¹

¹ Dept of Biology, College of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Article Info

Article type:

Research article

Article History:

Received: 01 February 2021

Revised: 21 February 2021

Accepted: 24 July 2021

* Correspondence to:

Mohammad Amin Edalatmanesh
Dept of Biology, College of
Sciences, Shiraz Branch, Islamic
Azad University, Shiraz, Iran
Email:
amin.edalatmanesh@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Stem cell-based therapies create new hope for the treatment of Alzheimer's disease (AD). Since the mesenchymal stem cells have neuroprotective and regeneration effects, this study aimed to investigate the memory, learning, and antioxidant capacity of the hippocampus following human adipose-derived mesenchymal stem cell (Ad-MSC) transplantation in Trimethyltin (TMT) rat's model of AD.

Material & Methods: In total, 24 male Wistar rats were randomly divided into three groups (8 animals per group) of control (without any treatment), TMT+PBS (Trimethyltin+Phosphate buffer saline), and TMT+Ad-MSC (Trimethyltin+Stem cells). For the induction of the AD, TMT was peritoneally injected (8 mg/Kg). After 48 h, the TMT+Ad-MSC group received 1 million stem cells intravenously. One month after transplantation, avoidance and working memories were evaluated. Afterward, hippocampal levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and malondialdehyde (MDA) were measured using ELISA.

Findings: The results showed a significant increase in the percentage of correct motor frequency in the Y maze, a decrease in the spent time in the dark room ($P<0.05$), and an increase in the latency time to the dark room in the TMT+Ad-MSC group, compared to the TMT+PBS group ($P<0.01$). Moreover, a significant increase in the CAT, SOD, and GPX enzymes activity, as well as a decrease in the MDA level in the hippocampus were observed in the TMT+Ad-MSC group, compared to the TMT+PBS group ($P<0.05$).

Discussion & Conclusion: Xenotransplantation of human adipose tissue stem cell improved learning and memory, reduced tissue oxidative stress, and increased hippocampal antioxidant capacity in an animal model of AD.

Keywords: Alzheimer's disease, Memory, Mesenchymal stem cells, Oxidative Stress, Rat

► How to cite this paper

Edalatmanesh MA, Nemati S, Khodabandeh H. Systemic Transplantation Effect of Human Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells on Cognitive Deficits and Hippocampal Antioxidant Capacity in Trimethyltin Model of Alzheimer's Disease. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;29(5): 32-43.



© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

اثر پیوند سیستمیک سلول های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان بر اختلالات شناختی و ظرفیت آنتی اکسیدانی هیپوکامپ در مدل تری-متیل تینی بیماری آلزایمر

محمد امین عدالت منش^{1*} ، سمیره نعمتی¹، حبیب الله خدا بنده¹

¹ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، شیراز، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۳

تاریخ داوری: ۱۳۹۹/۱۲/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۲

نویسنده مسئول:

محمد امین عدالت منش

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، شیراز، ایران

Email:

amin.edalatmanesh@gmail.com

مقدمه: درمان های مبتنی بر سلول های بنیادی امید تازه ای در درمان بیماری آلزایمر ایجاد کرده اند. از آنجاکه سلول های بنیادی مزانشیمی آثار حفاظت و بازسازی عصبی دارند، هدف این مطالعه ارزیابی حافظه، یادگیری و ظرفیت آنتی اکسیدانی هیپوکامپ متعاقب پیوند سلول های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان در موش های صحرایی مدل تری-متیل تینی بیماری آلزایمر است.

مواد و روش ها: ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به سه گروه (n=۸)، شامل گروه های کنترل (بدون هیچ نوع تیماری)، TMT+PBS (تری-متیل تین + فسفات بافر سالین) و TMT+Ad-MSC (تری-متیل تین + سلول های بنیادی بافت چربی) تقسیم شدند. برای القای بیماری آلزایمر، تری-متیل تین (TMT) به صورت درون صفاقی (۸ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) تزریق گردید. ۴۸ ساعت بعد، گروه TMT+Ad-MSC یک میلیون سلول به صورت درون وریدی دریافت کرد. یک ماه پس از پیوند، حافظه اجتنابی و کاری ارزیابی شد؛ سپس سطح هیپوکامپی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوکوتایون پراکسیداز (GPX) و مالون دی-آلدئید (MDA) به روش الیزا سنجیده گشت.

یافته ها: نتایج نشان دهنده افزایش معنادار درصد تناوب صحیح حرکتی در ماز Y، کاهش مدت زمان طی شده در محفظه تاریک (P<0.05) و افزایش معنادار تأخیر در ورود به محفظه تاریک در گروه TMT+Ad-MSC نسبت به گروه TMT+PBS بود (P<0.01)؛ همچنین افزایش فعالیت آنزیم های CAT، SOD و GPX و کاهش سطح MDA در هیپوکامپ در گروه TMT+Ad-MSC در مقایسه با گروه TMT+PBS دیده شد (P<0.05).

بحث و نتیجه گیری: پیوند زونوگراف سلول های بنیادی بافت چربی انسان سبب بهبود حافظه و یادگیری، کاهش استرس اکسیداتیو بافتی و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی هیپوکامپ در مدل حیوانی بیماری آلزایمر گردید.

واژه های کلیدی: استرس اکسیداتیو، بیماری آلزایمر، حافظه، سلول های بنیادی مزانشیمی، موش صحرایی

استناد: عدالت منش، محمد امین؛ نعمتی، سمیره؛ خدا بنده، حبیب الله. اثر پیوند سیستمیک سلول های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان بر اختلالات شناختی و ظرفیت آنتی اکسیدانی هیپوکامپ در مدل تری-متیل تینی بیماری آلزایمر. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، دی ۱۴۰۰؛ ۲۹(۵): ۳۲-۴۳.

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین شکل زوال عقل است که علائم بالینی از جمله نداشتن حافظه و اختلال عملکرد شناختی را نشان می‌دهد. تجمع قطعات پپتیدی بتا آمیلوئید به بروز اختلالات حرکتی، شناختی و مرگ نورونی در مبتلایان منجر می‌شود (۱). با اینکه استرس اکسیداتیو یکی از عوامل ایجادکننده اختلالات نورودژنراتیو است و علاوه بر اختلالات شناختی که نشانه اصلی بیماری آلزایمر محسوب می‌شود، همراهی سایر بیماری‌های روانی از جمله اختلالات رفتاری و خلقی، پیامد و سیر این بیماری را رو به وخامت می‌برد و درمان این اختلالات نیز خود توجه بالینی خاصی را می‌طلبد (۲). با وجود پیشرفت‌های فراوانی که در زمینه‌های مختلف پزشکی ترمیمی صورت گرفته است، تاکنون درمان قطعی برای اختلالات نورودژنراتیو وجود نداشته است. با این حال، در سال‌های اخیر رویکرد استفاده از سلول‌های بنیادی در درمان بیماری‌های عصبی امیدوارکننده بوده است. سلول‌های بنیادی سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که با قرار گرفتن در شرایط مناسب، قابلیت تمایز به رده‌های مختلف سلولی را دارند. به نظر می‌رسد که این سلول‌ها با ترمیم یا جایگزین شدن در بافت‌های صدمه‌دیده، نقطه عطفی در پزشکی ترمیمی ایفا کنند (۳). سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌عنوان یک کاندید مناسب برای سلول درمانی در بیماری‌های عصبی معرفی شده‌اند. این سلول‌ها با تولید انواع فاکتورهای نوروتروفیک برای تنظیم انعطاف‌پذیری نورونی و نوروزن در بهبود حافظه و عملکردهای شناختی در مدل‌های حیوانی بیماری آلزایمر نقش مهمی داشته‌اند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی یکی از رده‌های سلولی جذاب در طب ترمیمی است که قادر به بیان ژن‌های پیش‌ساز عصبی و دارای توانایی تمایز به سلول‌های شبه‌عصبی هستند (۴).

تری‌متیل‌تین کلراید (Trimethyltin; TMT) یک نوروتوکسین نیرومند است که سبب ایجاد اختلالات رفتاری- شناختی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی

می‌شود. مسمومیت با تری‌متیل‌تین سبب آسیب‌پذیری انتخابی نورون‌ها می‌گردد که آسیب سیستم لیمبیک و به‌ویژه هیپوکامپ را در بر دارد. پاتولوژی تحلیل عصبی القاشده با تری‌متیل‌تین با مرگ سلولی گسترده، اختلالات میتوکندریایی، استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی، سمیت تحریکی و اختلالات شناختی همراه است (۵)؛ بنابراین، مسمومیت با تری‌متیل‌تین به‌عنوان یک مدل تجربی در مطالعه اختلالات شبه‌بیماری آلزایمر مفید است. استرس اکسیداتیو ناشی از TMT، با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نیترژن (RNS) و پراکسیداسیون لیپیدی مشخص می‌شود، درحالی‌که آسیب میتوکندریایی احتمالاً نتیجه برهم‌کنش TMT با پروتئین استاتین است که به آزادسازی سیتوکروم C و فعالیت آبشار آنزیمی کاسپاز منجر می‌گردد (۶). هرچند مطالعاتی درباره اثر پیوند سیستمیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی در بهبود اختلالات شناختی صورت گرفته است، با این حال، هنوز پرسش‌های مختلفی درباره سازوکار اثرگذاری سلول‌های بنیادی بافت چربی به‌ویژه پس از زونگرافت آن مطرح است. برخی از مطالعات به نقش آنتی‌اکسیدانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی اشاره کرده‌اند (۷)؛ بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی پیوند زونگرافت سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان بر مؤلفه‌های استرس اکسیداتیو، بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و حافظه اجتنابی و کاری در موش‌های صحرایی مدل بیماری آلزایمر است.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه بندی: در مطالعه تجربی حاضر، از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی 220 ± 20 گرم و سن تقریبی ۸ هفته، تحت شرایط استاندارد با چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 24 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 ± 10 درصد استفاده گردید. همه مراحل آزمایش مطابق با قوانین بین‌المللی نگهداری و مراقبت از حیوانات و با نظارت کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد

سلول‌های بنیادی مزانشیمی استفاده گردید. بدین منظور، سلول‌های مستخرج از بافت چربی در پاساژ سوم، به مدت ۱۴ روز در محیط آدیپوژنیک شامل DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS، ۲۰۰ میکرومولار ایندومتاسین (Sigma, Germany)، ۱ میکرومولار دگزامتازون و ۲۰۰ میکرومولار بتاگلیسروفسفات (Sigma, Germany) و محیط استئوژنیک شامل DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS، ۱۰ میلی‌مولار گلیسرول فسفات (Sigma, Germany)، ۲۰۰ میکرومولار اسکوربیک اسید و ۱۰۰ نانومولار دگزامتازون (Sigma, Germany) کشت داده شدند. پس از رسیدن تراکم سلولی در محیط کشت به ۸۰-۷۰ درصد، محیط‌های کشت تمایزی تعویض گردیدند (دو بار در هفته). پس از ۱۴ روز، تمایز سلول‌ها به آدیپوسیت با رنگ‌آمیزی Oil-Red O (Sigma, Germany) بررسی شد؛ همچنین تمایز سلول‌ها به استخوان پس از ۲۱ روز، با رنگ‌آمیزی قرمز آلزارین بررسی گردید. سلول‌ها در زیر میکروسکوپ معکوس (Olympus, Japan) مشاهده شدند. در رنگ‌آمیزی آدیپوسیت، Oil-Red O سبب قرمز رنگ شدن قطرات چربی موجود در آدیپوسیت‌ها می‌شود، درحالی‌که قرمز آلزارین (Sigma, Germany) با اتصال به یون‌های کلسیم حاصل از سلول‌های استئوبلاست، در محیط کشت به رنگ قابل تشخیص پدیدار خواهد شد (۹).

القای مدل و پیوند سلول: برای القای مدل بیماری آلزایمر در موش‌های صحرایی، میزان ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تری‌متیل‌تین کلراید (Sigma, Germany) درون صفاقی به حیوانات گروه‌های TMT+PBS و TMT+Ad-MSC تزریق گردید. متعاقب مسمومیت با TMT، حیوانات علائمی نظیر کرختی، پرخاشگری، افزایش دمای بدن و تشنج را پس از تزریق دارو نشان دادند که از علائم تأثیر دارو است (۱۰). برای تأیید مدل، از آزمون شاتل باکس استفاده شد و با تأیید اختلال شناختی در نمونه‌های تصادفی هر گروه، تیمار با سلول‌های بنیادی آغاز گردید.

اسلامی واحد شیراز به شماره مجوز ۱۲۴-۲۵۱۴-۹۸-IR-IAUSHIRAZ-انجام شد.

پس از تهیه حیوانات از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، برای سازگاری با محیط جدید، یک هفته در شرایط آزمایشگاه تخصصی علوم جانوری دانشگاه آزاد اسلامی شیراز قرار گرفتند؛ سپس به صورت تصادفی، به سه گروه هشت‌تایی شامل گروه کنترل (بدون هیچ نوع تیماری)، گروه TMT+PBS دریافت‌کننده ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن TMT و فسفات بافر سالین به عنوان حامل سلول‌های بنیادی با تزریق درون وریدی، (۰.۷ میلی‌گرم TMT+Ad) و گروه MSC دریافت‌کننده ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن TMT و یک میلیون سلول بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان، (۰.۷ تقسیم شدند) (۹).

استخراج و تعیین هویت سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان: نمونه بافت چربی به روش جراحی لایپوساکشن از یک زن سالم ۳۲ ساله و از سوی جراح در بیمارستان جمع‌آوری گردید؛ سپس نمونه‌ها بر روی یخ و در کمترین زمان به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های بافت چربی ۴-۵ بار با فسفات بافر سالین (PBS, Gibco) محتوی ۱ درصد آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین / استرپتومایسین، Biosera) شستشو داده شدند؛ سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند تا فاز مایع و چربی به آرامی از یکدیگر جدا گردند. فاز مایع دور ریخته شد و هضم کلان‌نازی بافت چربی با استفاده از کلان‌ناز ۰/۱ درصد (Sigma) به مدت ۱ ساعت صورت گرفت. پس از سانتریفیوژ نمونه‌های بافتی هضم‌شده با دور 5000 rpm در زمان ۵ دقیقه، سلول‌های باقی‌مانده در کف لوله آزمایش در محیط کشت (DMEM, Gibco) حاوی ۱۰ درصد سرم جنینی گاو (FBS, Gibco) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک کشت گردید (۹). سلول‌ها پس از رسیدن به تعداد مناسب در پاساژ سوم، برای پیوند آماده‌سازی شد. برای اثبات بنیادی بودن سلول‌های مستخرج از بافت چربی، از سنجش ظرفیت آدیپوژنری و استئوژنری

سپس ۴۸ ساعت پس از تزریق TMT، سلول‌های بنیادی بافت چربی به میزان 1×10^6 به گروه TMT+Ad- MSC، به روش سیستمیک و با حجم 0.2 میلی‌لیتر به همراه حامل PBS از طریق ورید ژوگولار تزریق شد. برای تزریق سیستمیک سلول‌های بنیادی، حیوانات با تزریق درون صفاقی مخلوطی از 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین هیدروکلراید و 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین بیهوش گردیدند. محل تزریق (بالای استخوان کلاویکل) کاملاً تمیز و استریل شد؛ سپس با ایجاد برش کوچک به طول نیم سانتی‌متر و بدون آسیب به رگ، سلول‌های بنیادی (به آرامی و در مدت زمان یک دقیقه) به همراه 0.2 میلی‌لیتر حامل آن (PBS) به درون ورید تزریق گردید؛ پس از آن، محل جراحی بخیه زده شد و حیوان به قفس ریکاوری منتقل گردید. یک ماه پس از تزریق سلول‌های بنیادی، آزمون‌های رفتاری صورت گرفت (۹). با توجه به دقت در تزریق TMT و سلول‌های بنیادی مزانشیمی و ریکاوری مناسب پس از به هوش آمدن حیوانات و گرم نگه داشتن، تلفات حیوانی مشاهده نشد.

ارزیابی حافظه کاری: برای سنجش حافظه کاری از آزمون ماز Y استفاده گردید. این ماز از سه بازو به ابعاد یکسان شبیه به حرف Y تشکیل شده است. هر بازو ابعاد $15 \times 30 \times 40$ سانتی‌متر دارد که با یک محوطه مرکزی به هم متصل می‌شوند. در شروع، حیوان به آرامی و بدون استرس در یکی از سه بازو قرار گرفت و حرکات آن به مدت ۵ دقیقه مشاهده گردید. تعداد دفعات ورود حیوان به هر یک از بازوها ثبت شد. ملاک ورود حیوان به یک بازو، قرار گرفتن پاهای عقبی حیوان به‌طور کامل در داخل بازو بود. رفتار تناوب به‌عنوان ورودهای موفق و پشت سرهم (سریال) به داخل همه بازوها در مجموعه‌های ۳ تایی همپوشانی‌کننده در نظر گرفته شد. برای تعیین میزان حافظه کاری، درصد رفتارهای تناوبی از حاصل جمع ورودهای موفق تقسیم بر ورودی‌های کل بازو منهای ۲ ضرب در صد محاسبه گردید. منظور از

ورودهای موفق، ورودهای متناوب و پشت‌سرهم و سریالی در هر سه بازو است (۱۱).

ارزیابی حافظه اجتنابی: آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال توسط دستگاه شاتل باکس انجام گرفت. این دستگاه، جعبه‌ای از جنس پلکسی گلاس شامل دو محفظه روشن و تاریک است که در میانه آن یک درب گیوتینی تعبیه شده است که دو محفظه را از هم جدا می‌کند. در کف این دستگاه، میله‌های استیل متصل به یک مدار الکتریکی است که با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس مشخص از آن عبور می‌کند. اساس این آزمون بر پایه فرار غریزی موش‌های صحرائی از روشنایی و وجود عامل احترازی (شوک الکتریکی) در محیط تاریک است. این آزمون شامل سه مرحله اصلی است: الف. مرحله سازش: به‌منظور سازش یا خوگیری حیوانات با محیط، حیوان در محیط روشن قرار گرفت و پس از 30 ثانیه، در گیوتینی را باز می‌شود تا حیوان اختیار داشته باشد به محفظه تاریک برود؛ ب. مرحله اکتساب (آموزش): یک روز (۲۴ ساعت) پس از مرحله سازش انجام شد. حیوان در محیط روشن قرار گرفت؛ پس از 30 ثانیه در گیوتینی باز و پس از ورود حیوان به محیط تاریک در بسته و شوک (۲ میلی‌آمپر، ۲ ثانیه و ۵۰ هرتز) وارد شد. 20 ثانیه پس از شوک، حیوان از دستگاه برداشته و به قفس منتقل گردید؛ ج. مرحله به‌یادآوری (آزمون): یک روز پس از مرحله اکتساب، آزمایش به‌خاطرآوری انجام شد. حیوان در محیط روشن قرار گرفت و پس از 30 ثانیه در گیوتینی باز و مدت‌زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک (LTD) و کل زمان سپری‌شده در محفظه تاریک (STD) ثبت گردید. در این مرحله هیچ‌گونه شوکی داده نمی‌شود. کل زمان این آزمون 300 ثانیه است. برای تعیین میزان پایداری حافظه، 48 ساعت پس از اکتساب نیز این آزمون دوباره انجام گرفت (۱۲).

آنالیز مؤلفه‌های استرس اکسیداتیو: برای ارزیابی سطح هیپوکامپی مؤلفه‌های استرس اکسیداتیو، پس از انجام آزمون‌های رفتاری- شناختی، حیوانات هر گروه با استنشاق گاز کلروفورم در دسیکاتور بیهوش و بلافاصله

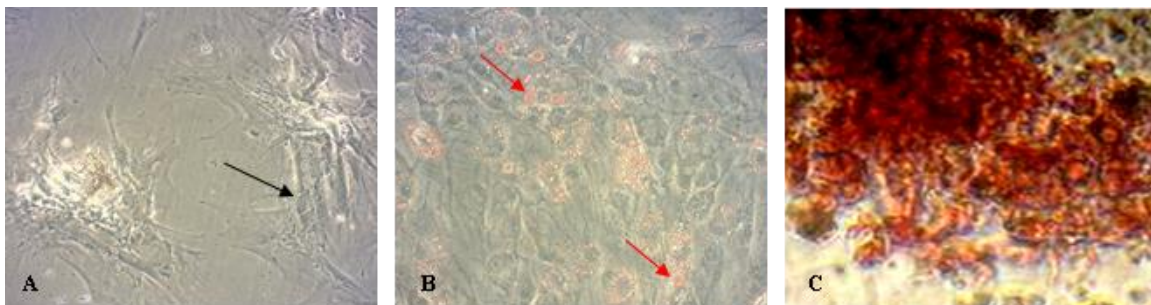
آنالیز آماری و تحلیل داده‌ها: اطلاعات به‌دست‌آمده از مطالعه رفتاری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS vol.20 آنالیز شد. پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها به کمک آزمون کلموگروف اسمیرنوف، با استفاده از آزمون واریانس یک-طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey به مقایسه گروه‌های مدنظر پرداخته شد. مقادیر به‌صورت میانگین و انحراف معیار و حداقل سطح معناداری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

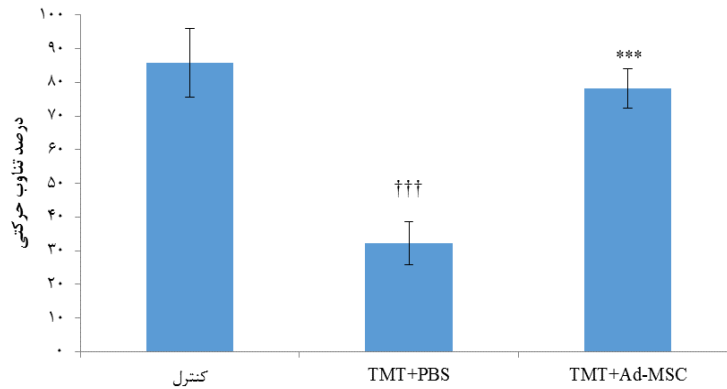
ارزیابی ماهیت سلول‌های بنیادی: با توجه به مشاهده ویژگی‌های ظاهری مانند چسبندگی به کف فلاسک، مورفولوژی دوکی و شبه‌فیروبلاستی سلول‌ها (شکل شماره ۱. A)، تمایز به آدیپوسیت (شکل شماره ۱. B) و تمایز به استئوسیت (شکل شماره ۱. C) نشان داده شد که سلول‌های مستخرج از بافت چربی انسان ماهیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی را دارند. ۱۴ روز پس از کشت سلول‌ها در محیط آدیپوژنیک، حضور قطرات چربی به علت تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به آدیپوسیت-هاست که با رنگ‌آمیزی Oil-Red O مشاهده شد و نیز ۲۱ روز پس از تیمار سلول‌ها در محیط استئوژنیک، مشاهده ماتریکس مینرالیزه استخوانی در رنگ‌آمیزی آلیزارین رد نشان‌دهنده ماهیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های حاصل بود (شکل شماره ۱).

سر آن‌ها با دستگاه گیوتین مخصوص جوندگان جدا گردید. مغز از مجسمه خارج شد و به‌سرعت بر روی یخ قرار گرفت. هیپوکامپ با دقت در زیر استریوسکوپ (Olympus, Japan) از بقیه بخش‌های مغز جدا گردید. پس از شستشو با محلول نرمال سالین به همراه بافر تریس (Sigma, Germany)، هموژیناسیون بافتی به مدت ۵ دقیقه با دستگاه هموژنایزر (IKA, Germany) با ۵۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. محلول حاصل به همراه ۰/۵ میلی‌مولار فنیل متیل سولفونیل فلوراید (Sigma-Aldrich, Germany) به‌عنوان مهارکننده پروتئازی توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار (Hermle, Germany) سانتریفیوژ گردید و سپس میزان بافتی عوامل استرس اکسیداتیو در محلول رویی سنجیده شد (۱۳).

به کمک روش الیزا و با استفاده از کیت‌های شرکت FineTest®، سطح هیپوکامپی فعالیت آنزیم‌های CAT با حساسیت $< 18/75$ میلی واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر و محدوده $2000-31/2$ میلی واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر، SOD با حساسیت $< 9/375$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده $1000-15/6$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، GPX با حساسیت $< 18/75$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده $2000-31/25$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و MDA با حساسیت $< 4/688$ نانوگرم بر میلی‌لیتر و محدوده $500-7/813$ نانوگرم بر میلی‌لیتر با دستگاه میکروپلیت ریدر (Stat Fax 2100, USA) سنجیده گردید.



شکل شماره ۱. مورفولوژی سلول‌های مستخرج از بافت چربی انسان پیش (A)، پس از تمایز به آدیپوسیت (B) و تمایز به استئوسیت (C). ظاهر دوکی شکل و فیروبلاست مانند سلول‌های مشتق از بافت چربی در پاساژ ۳ در شکل A قابل مشاهده است (پیکان سیاه)؛ همچنین حضور قطرات چربی در محیط آدیپوژنیک در شکل B (پیکان قرمز) مؤید تمایز به آدیپوسیت و ماتریکس قرمز مینرالیزه در محیط استئوژنیک تأیید کننده تمایز به استئوسیت و ماهیت مزانشیمی سلول‌های مستخرج است (بزرگ‌نمایی $40\times$).



شکل شماره ۲. مقایسه میانگین \pm انحراف استاندارد درصد تناوب صحیح حرکتی در گروه‌های مختلف. نتایج نشان داد که میان گروه TMT+PBS با گروه کنترل ($P < 0.001$) و نیز میان گروه TMT+Ad-MSC با گروه TMT+PBS اختلاف معناداری وجود دارد ($P < 0.001$).

معنی دار تأخیر در ورود به محفظه تاریک ۲۴ ساعت (LTD24) و ۴۸ ساعت (LTD48) پس از القای شوک، در گروه TMT+PBS نسبت به گروه کنترل دیده شد ($P < 0.01$). علاوه بر این، STD24 و STD48 در گروه TMT+Ad-MSC در مقایسه با گروه TMT+PBS، کاهش معناداری داشته است ($P < 0.001$). از سویی، LTD24 ($P < 0.05$) و LTD48 ($P < 0.01$) در گروه TMT+Ad-MSC در مقایسه با گروه TMT+PBS افزایش معناداری را نشان داد. LTD24 و LTD48 در گروه TMT+Ad-MSC و در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معناداری را نشان نداد. جزئیات نتایج در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

ارزیابی مؤلفه‌های استرس اکسیداتیو: نتایج به‌دست‌آمده از سنجش مؤلفه‌های استرس اکسیداتیو (جدول شماره ۲) بیانگر کاهش معنی دار سطح فعالیت آنزیم CAT در گروه TMT+PBS نسبت به گروه کنترل

آزمون حافظه کاری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درصد تناوب صحیح حرکتی در ماز Y در گروه TMT+PBS کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P < 0.001$). هرچند تزریق سیستمیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسانی سبب بهبود حافظه کاری و افزایش تناوب حرکتی در گروه TMT+Ad-MSC نسبت به گروه TMT+PBS شده است ($P < 0.001$)، یک ماه پس از پیوند سلولی تفاوت معناداری در حافظه کاری میان گروه کنترل با گروه دریافت‌کننده سلول دیده نشد (شکل شماره ۲).

آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال: نتایج به‌دست‌آمده از آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال مبنی بر ترس نشان می‌دهد مدت‌زمان باقی ماندن در تاریکی طی ۲۴ ساعت (STD24) و ۴۸ ساعت (STD48) پس از القای شوک، در گروه TMT+PBS و در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری یافته است ($P < 0.001$)؛ همچنین کاهش

جدول شماره ۱. مقایسه میانگین \pm انحراف معیار مدت‌زمان تاریکی (STD) و مدت‌زمان تأخیر (LTD) در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از شوک، در آزمون حافظه اجتنابی غیرفعال مبنی بر ترس در گروه‌های مختلف

| مؤلفه‌ها / گروه‌ها | کنترل | TMT+PBS | TMT+Ad-MSC |
|--------------------|--------------------|------------------------|------------------------|
| STD24 | ۶۵/۵۸ \pm ۱۲/۹۳ | ۱۷۲/۲۰ \pm ۲۵/۱۵ ††† | ۹۲/۷۱ \pm ۱۲/۸۳ *** |
| STD48 | ۸۶/۲۴ \pm ۱۴/۷۸ | ۲۳۶/۲۶ \pm ۳۶/۸۳ ††† | ۱۲۳/۸۰ \pm ۲۵/۶۲ *** |
| LTD24 | ۱۱۶/۲۴ \pm ۳۷/۹۳ | ۸۱/۵۸ \pm ۱۰/۸۴ †† | ۱۰۶/۷۲ \pm ۱۴/۸۹ * |
| LTD48 | ۹۱/۰۹ \pm ۲۵/۲۷ | ۴۳/۹۱ \pm ۱۱/۶۰ †† | ۸۶/۲۹ \pm ۱۲/۸۶ ** |

برای مقایسه گروه‌ها باهم از آنالیز تعقیبی Tukey استفاده شد. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر موش صحرایی است. نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی دار میان گروه TMT+PBS با گروه کنترل ($P < 0.001$) و $P < 0.01$) و نیز میان گروه TMT+Ad-MSC با گروه TMT+PBS است ($P < 0.001$) و $P < 0.01$ و $P < 0.05$).

جدول شماره ۲. مقایسه میانگین \pm انحراف معیار مؤلفه های استرس اکسیداتیو (SOD, CAT, GPX و MDA) در گروه های مختلف

| مؤلفه ها / گروه ها | کنترل | TMT+PBS | TMT+Ad-MSc |
|--------------------|--------------------|--|----------------------|
| CAT (mIU/ml) | ۱۳۷/۸۵ \pm ۲۴/۲۱ | ۵۱/۶ \pm ۸۷/۴۵ $\dagger\dagger\dagger$ | ۷۳/۱۱ \pm ۵/۳۴ ** |
| SOD (pg/ml) | ۶۵/۶ \pm ۲۴/۶۱ | ۳۷/۴ \pm ۵۱/۲۴ $\dagger\dagger\dagger$ | ۵۷/۶۱ \pm ۴/۲۲ *** |
| GPX (pg/ml) | ۱۰۷/۱۱ \pm ۶/۵۸ | ۴۷/۶۵ \pm ۶/۴۹ $\dagger\dagger\dagger$ | ۶۷/۵۵ \pm ۷/۸۱ * |
| MDA (ng/ml) | ۳۱/۴۱ \pm ۳/۰۷ | ۸۴/۰۵ \pm ۵/۶۱ $\dagger\dagger\dagger$ | ۵۶/۲۷ \pm ۸/۱۵ ** |

برای مقایسه گروه ها با هم از آنالیز تعقیبی Tukey استفاده شد. تعداد حیوانات در هر گروه ۸ سر موش صحرایی است. نتایج نشان دهنده اختلاف معنی دار میان گروه TMT+PBS با گروه کنترل ($P < 0.001$)^{†††} و نیز میان گروه TMT+Ad-MSc با گروه TMT+PBS است ($P < 0.001$)^{***} و $P < 0.01$ و $P < 0.05$).

که پیوند زنوگرافت سلول های بنیادی بافت چربی انسان در موش های صحرایی سبب بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی هیپوکامپ، افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتایون پراکسیداز در هیپوکامپ، کاهش معنی دار فاکتور پراکسیداسیون لیپیدی مالون-دی-آلدهید به همراه افزایش درصد تناوب حرکتی که نشان دهنده حافظه کاری در ماز Y است و نیز کاهش STD و افزایش LTD طی آزمون شاتل باکس در مدل تری-متیل-تینی بیماری آلزایمر می گردد.

از آنجا که سلول های بنیادی مزانشیمی را می توان از منابع مختلفی نظیر خون بندناف، مایع آمنیوتیک، پالپ دندان، مغز استخوان و بافت چربی استخراج کرد و در بیماری های نورودژنراتیو به کار برد، مطالعه حاضر نشان داد که سلول های بنیادی استخراج شده از بافت چربی انسان قابلیت بهبود اختلالات شناختی در مدل بیماری آلزایمر را دارند. در واقع، سلول های بنیادی مزانشیمی به سبب قابلیت تکثیر بالا، خودنوزایی و تمایز به انواع سلول از قابلیت ترمیم و بازسازی بافت های مختلف بدن، همچنین قابلیت پیوند و تلفیق در بافت های آسیب دیده برخوردارند (۱۴). مطالعات گذشته نشان داده است سلول های بنیادی مزانشیمی به طور چشمگیری شکل گیری اتولیزوزوم (تلفیق لیزوزوم های اولیه با واکوئل های حاوی مواد سلولی) را افزایش می دهند و سبب پاک سازی آمیلوئید بتا از بافت مغز در مدل بیماری آلزایمر می شوند (۱۵). از سوی دیگر، تحقیقات نشان داده است که زنوگرافت سلول های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان سبب کاهش بیان فاکتورهای نکروتوتیک شبه پروتئین

بود ($P < 0.001$). این در حالی است که پیوند سلول های بنیادی مزانشیمی بافت چربی سبب افزایش معنادار سطح هیپوکامپی این آنزیم در گروه TMT+Ad-MSc نسبت به گروه TMT+PBS گردید ($P < 0.01$). در ارزیابی سطح فعالیت آنزیم SOD نیز، کاهش معناداری در گروه TMT+PBS نسبت به گروه کنترل دیده شد ($P < 0.001$). هرچند گروه TMT+Ad-MSc نسبت به گروه TMT+PBS، افزایش معناداری در سطح هیپوکامپی فعالیت این آنزیم از خود نشان داد ($P < 0.001$)؛ همچنین نتایج بیانگر آن بود که تیمار با TMT سبب کاهش فعالیت آنزیم GPX در هیپوکامپ گروه TMT+PBS نسبت به گروه کنترل می گردد ($P < 0.001$)، در حالی که تزریق درون وریدی سلول های بنیادی، سطح فعالیت این آنزیم را در هیپوکامپ گروه TMT+Ad-MSc نسبت به گروه TMT+PBS، به صورت معناداری افزایش داد ($P < 0.05$). سطح فاکتور MDA در گروه TMT+PBS نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری را بیان کرد ($P < 0.001$)، در حالی که سطح این فاکتور در هیپوکامپ گروه TMT+Ad-MSc کاهش چشمگیری نسبت به گروه TMT+PBS از خود نشان داد ($P < 0.01$).

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، به بررسی اثر پیوند سلول های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان بر مؤلفه های استرس اکسیداتیو، حافظه کاری و حافظه اجتنابی غیرفعال در مدل حیوانی بیماری آلزایمر پرداخته شد. نتایج نشان داد

کینازی در مدل حیوانی بیماری آلزایمر می‌گردد (۱۶).
عصارهٔ سیتوزولی سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی سبب کاهش آپوپتوز و اختلالات میتوکندریایی ناشی از سمیت سلول‌های هیپوکامپ در شرایط *in vitro* شده است. بقای سلولی، افزایش بیان پروتئین p53 و foxo3a به همراه کاهش بیان کاسپاز ۳ و پروتئین‌های Bax و Bcl2، به دنبال تجویز عصارهٔ سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی، در مدل بیماری آلزایمر دیده شده است (۱۷).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که مسمومیت با TMT سبب افزایش معنادار مدت زمان سپری شدن در محفظهٔ تاریک (STD)، کاهش تأخیر در ورود به محفظهٔ تاریک (LTD) و کاهش درصد تناوب حرکتی شد. در واقع، متعاقب مسمومیت با TMT، حافظهٔ مبتنی بر ترس و حافظهٔ کاری به شدت دچار آسیب گردید، هرچند تزریق درون وریدی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی انسان باعث بهبود یادگیری و حافظه شد و مدت زمان STD و LTD به ترتیب کاهش و افزایش فراوانی را نسبت به گروه TMT+PBS از خود نشان داد؛ همچنین درصد تناوب حرکتی را در ماز Y به شکل بارزی بهبود بخشید. مطالعهٔ پیشین ما نشان داده است که موش‌های صحرائی متعاقب مسمومیت با TMT، با تغییرات شناختی-رفتاری و نیز درجه‌ای از آسیب‌های پاتولوژیک سلول‌های هرمی هیپوکامپ مواجه شده‌اند (۱۸). در واقع، TMT بسته به زمان و غلظت استفاده شده، به مرگ سلولی آپوپتوزی در سلول‌های سیستم لیمبیک به ویژه هیپوکامپ منجر می‌گردد که با Bax ارتباط دارد. تری‌متیل‌تین بیان Bax را تحریک می‌کند که سبب تخریب غشای میتوکندری و آزادسازی سیتوکروم C از میتوکندری به سیتوزول می‌شود که به نوبهٔ خود آبتاز پروتئاز کاسپاز را برای اجرای آپوپتوز فعال می‌کند (۱۹). به نظر می‌رسد که انسان‌های در معرض TMT یک سندرم با نقص حافظه، لرزش، گیجی و پرخاشگری از خود بروز می‌دهند. مواجهه با TMT در مدل‌های آزمایشگاهی نیز باعث القای مسمومیت عصبی می‌شود که ممکن است به علت استرس اکسیداتیو اولیه باشد (۲۰).

مطالعهٔ حاضر نشان داد که متعاقب مسمومیت با TMT با القای استرس اکسیداتیو، سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مغز و به ویژه هیپوکامپ کاهش فراوانی دارد. محققین نشان داده‌اند که TMT تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد و در نتیجه، موجب آسیب بافت مغز در موش می‌گردد. سایر ویژگی‌های نوروپاتولوژیک بیماری آلزایمر شامل التهاب عصبی و فعال شدن آستروسیت‌ها و میکروگلیا که به طور معمول در پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز بیماران آلزایمری یافت می‌شود، متعاقب مسمومیت با TMT نیز دیده شده است (۲۱)؛ بنابراین، بر اساس مطالعهٔ حاضر و منطبق با مطالعات پیشین، استفاده از TMT می‌تواند یک مدل نورودژنراتیو با اثرگذاری بر حافظهٔ مبتنی بر ترس در حیوانات القا کند و یک روش پیشنهادی مناسب در مطالعات تخریب نورونی، اختلال حافظه و نقایص رفتاری مرتبط با عملکردهای شناختی در مدل‌های حیوانی است.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که به دنبال مسمومیت موش‌های صحرائی با TMT، حافظهٔ فضایی نیز به شدت تخریب می‌شود. تری‌متیل‌تین به تضعیف عملکرد یادگیری در موش‌های صحرائی در ماز آبی موریس منجر می‌گردد و تغییرات رفتاری و نقص بیوشیمیایی در مغز را به دنبال دارد (۲۲)؛ همچنین اختلال در توانایی یادگیری و حافظه به وسیلهٔ کاهش خودبه‌خودی رفتار تناوبی در ماز Y و کاهش قدرت حافظه و یادگیری در آزمون اجتنابی غیرفعال در مدل تری‌متیل‌تینی بیماری آلزایمر توصیف شده است (۲۳). مطالعهٔ حاضر نیز نشان داد که تزریق TMT به طور معناداری مدت زمان تأخیر در آزمون شاتل باکس را کاهش می‌دهد و به شدت به حافظهٔ بلندمدت آسیب می‌زند. یکی از علل آسیب به حافظهٔ اجتنابی، مرگ‌ومیر سلولی در هیپوکامپ است. در مطالعه‌ای، به دنبال تجویز TMT آسیب انتخابی به سلول‌های هرمی در CA3 و CA1 (به میزان کمتر) هیپوکامپ مشاهده شده است. دیده شده است که دوز پایین TMT (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب از بین رفتن انتخابی سلول‌های هرمی در ناحیهٔ CA3 هیپوکامپ

آنتی‌اکسیدانی را در مدل ایسکمی/ریپرفیوژن روده افزایش می‌دهد و همانند مطالعه حاضر، سطح MDA متعاقب پیوند سلول‌های بنیادی کاهش و سطوح فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD و GPX افزایش فراوانی نسبت به گروه تیمار نشده داشته است (۳۰). در مطالعه حاضر، متعاقب پیوند زانوگرافت، بهبودی عملکردی در حافظه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ احتمالاً نشان‌دهنده مهاجرت سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان به ناحیه آسیب‌دیده مغزی، آزادسازی فاکتورهای ترشحی یا حتی جایگزینی با سلول‌های آسیب‌دیده است، هرچند برای اطمینان از این عملکرد سلول‌های بنیادی، به مطالعات دقیق سلولی-مولکولی و هیستوپاتولوژیکی نیاز است.

نتایج مطالعه حاضر از تخریب حافظه و یادگیری متعاقب مسمومیت با تری‌متیل‌تین به‌عنوان مدلی از بیماری آلزایمر و بهبود آن به دنبال پیوند سیستمیک سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان در موش‌های صحرایی نشان دارد. این امر احتمالاً به سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هیپوکامپ متعاقب تجویز سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند باشد؛ از این رو، می‌توان با شناخت بهتر ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو سلول‌های بنیادی بافت چربی گام مهمی برای بهبود اختلالات شناختی ناشی از استرس اکسیداتیو نظیر بیماری آلزایمر برداشت.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات عزیزانی که در نگارش این مقاله همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافی در این مطالعه وجود ندارد.

کد اخلاق: ۹۸-۲۵۱۴-۱۲۴-IR-IAUSHIRAZ

موش‌های صحرایی می‌گردد و هنگامی که دوز افزایش می‌یابد، آسیب سلولی به CA1 گسترش می‌یابد (۲۴).

به نظر می‌رسد که چندین سازوکار مختلف از جمله تمایز سلول‌های پیوندی به سلول‌های عصبی در شرایط *in vivo* جایگزینی عصبی، آزادسازی عوامل رشد و کموکاین‌ها توسط سلول‌های پیوندی می‌تواند سبب بهبود ضایعات عصبی گردند (۲۵). مطالعه پیشین ما نشان داده است که پیوند سیستمیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان اختلالات حرکتی و شناختی در مدل حیوانی دژنراسیون استریاتوم، به‌عنوان مدلی از بیماری هانتینگتون را بهبود می‌بخشد (۲۶). از آنجا که سلول‌های بنیادی مزانشیمی قابلیت مهاجرت و لانه‌گزینی بالایی به بافت آسیب‌دیده متعاقب پیوند سیستمیک دارند و نیز به علت دارا بودن قابلیت هایپوایمنوژنیسته، از ظرفیت پیوند آلوزنیک و زونوزنیک برخوردارند (۲۷).

از آنجا که التهاب ناشی از استرس اکسیداتیو فرایند کلیدی در پاتوفیزیولوژی اختلالات نورودژنراتیو است و نقش سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان به‌عنوان یک راهبرد جدید در حفاظت عصبی مطرح شده است، به نظر می‌رسد این سلول‌ها قادرند با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش مرگ سلولی متعاقب استرس اکسیداتیو در شرایط *in vitro* شوند (۲۸). همانند مطالعه حاضر، فرغان و همکاران نشان دادند که تجویز اینترانازال سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی می‌تواند استرس اکسیداتیو هیپوکامپ را کاهش دهد. این سازوکار از طریق کاهش سطح گلوکوتایون بافتی، افزایش سطح فاکتور آنتی‌اکسیداتیو هسته‌ای NRF2 و افزایش پروتئین آنتی‌اکسیداتیو NQO1 به وقوع می‌پیوندد که مرگ سلولی، التهاب عصبی و بهبود عملکرد رفتاری را در مدل آسفیکسیای پرنیتال به دنبال دارد (۲۹)؛ همچنین پیوند موضعی و سیستمیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ظرفیت

References

1. Ferreira S, Raimundo AF, Menezes R, Martins IC. Islet amyloid polypeptide and amyloid beta peptide roles in Alzheimer disease two triggers one disease. *Neural Reg Res* 2021; 16:1127-30. doi.10.4103/1673-5374.300323.
2. Loeffler DA. Modifiable non modifiable, and clinical factors associated with progression of Alzheimer disease. *J Alzheimers Dis* 2021; 80:1-27. doi.10.3233/JAD-201182.
3. Kwak KA, Lee SP, Yang JY, Park YS. Current perspectives regarding stem cell-based therapy for Alzheimer disease. *Stem Cell Int* 2018; 2018:6392986. doi. 10.1155/2018/6392986.
4. Bagherimohammadi S. Stem cell based therapy as a promising approach in Alzheimer disease current perspectives on novel treatment. *Cell Tis Bank* 2021; 22:339-53. doi. 10.1007/s10561-020-09896-3.
5. Pompili E, Fabrizi C, Fumagalli L, Fornai F. Autophagy in trimethyltin induced neurodegeneration. *J Neural Transm* 2020; 127:987-98. doi.10.1007/s00702-020-02210-1.
6. Malekzadeh S, Edalatmanesh MA, Mehrabani D, Shariati M. Drugs induced Alzheimer disease in animal model. *Galen Med J* 2017; 6:185-96. doi. 10.22086/gmj.v6i3.820.
7. Aboulhoda BE, Rashed LA, Ahmed H, Obaya EMM, Ibrahim W, Alkafass MAL, et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer disease. *J Cell Physiol* 2021; 236: 5994-6010. doi.10.1002/jcp.30283.
8. Yazdanfar S K, Edalatmanesh MA. [Systemic transplantation of valproic acid primed human adipose stem cells on amelioration of motor deficits in animal model of cerebellar degeneration]. *Sci J Kurdistan Uni Med Sci* 2018; 23:77-90. (Persian)
9. Hosseini M, Moghadas M, Edalatmanesh MA, Hashemzadeh MR. Xenotransplantation of human adipose derived mesenchymal stem cells in a Rodent model of Huntington's disease motor and non-motor outcomes. *Neurol Res* 2015; 37:309-19. doi.10.1080/01616412.2017.1298496.
10. Moghadas M, Edalatmanesh MA, Robati R. histopathological analysis from gallic acid administration on hippocampal cell density depression, and anxiety related behaviors in a trimethyltin intoxication model. *Cell J* 2016; 17:659-67. doi.10.22074/cellj.2016.3838.
11. Saberi Z, Edalatmanesh MA. [The effect of gallic acid on cognitive dysfunctions with intrauterine growth restriction in Rats]. *Alborz Uni Med J* 2019; 8:185-99. (Persian)
12. Edalatmanesh MA, Hosseini M, Ghasemi S, Golestani S, Sadeghnia HR, Mousavi SM, et al. Valproic acid mediated inhibition of trimethyltin induced deficits in memory and learning in the Rat does not directly depend on its anti oxidant properties. *Ir J Med Sci* 2016; 185:75-84. doi.10.1007/s11845-014-1224-y.
13. Edalatmanesh MA, Shahsavan S, Rafiei S, Khodabandeh H. [The effect of gallic acid on depression symptoms oxidative stress markers and inflammatory cytokines in Rats hippocampus after tmt intoxication an experimental study]. *J Rafsanjan Uni Med Sci* 2018; 17:815-28. (Persian)
14. Wang YH, Guo YC, Wang DR, Liu JY, Pan J. adipose stem cell based clinical strategy for neural regeneration a review of current opinion. *Stem Cell Int* 2019; 2019:8502370. doi.10.1155/2019/8502370.
15. Shin JY, Park HJ, Kim HN, Oh SH, Bae JS, Ha HJ, et al. Mesenchymal stem cells enhance autophagy and increase β amyloid clearance in Alzheimer disease models. *Autophagy* 2014; 10:32-44. doi.10.4161/auto.26508.
16. Eftekharzadeh M, Simorgh S, Doshmanziari M, Hassanzadeh L, Shariatpanahi M. Human adipose derived stem cells reduce receptor interacting protein 1 receptor interacting protein 3 and mixed lineage kinase domain like pseudokinase as necroptotic markers in rat model of Alzheimer disease. *Indian J Pharmacol* 2020; 52:392-401. doi.10.4103/ijp.IJP_545_19.
17. Liu T, Lee M, Ban JJ, Im W, Mookjung I, Kim M. Cytosolic extract of human adipose stem cells reverses the amyloid beta induced mitochondrial apoptosis via p53/foxo3a pathway. *PLoS One* 2017; 12:168859. doi. 10.1371/journal.pone.0168859.
18. Moghadas M, Edalatmanesh MA. Protective effect of lithium chloride against trimethyltin induced hippocampal degeneration and comorbid depression in Rats. *Comp Clin Pathol* 2014; 24:1165-75. doi.10.1007/s00580-014-2055-y
19. Mignini F, Nasuti C, Artico M, Giovannetti F, Fabrizi C, Fumagalli L, et al. Effects and trimethyltin on hippocampal dopaminergic markers and cognitive behaviour. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012; 25:1107-19. doi.10.1177/039463201202500428.
20. Zhang L, Li L, Prabhakaran K, Borowitz JL, Isom GE. Trimethyltin-induced apoptosis is associated with upregulation of inducible nitric oxide synthase and Bax in a hippocampal cell line. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 216:34-43. doi. 10.1016/j.taap.2006.05.004.
21. Morita M, Imai H, Liu Y, Xu X, Sadamatsu M, Nakagami R, et al. FK506-protective effects against trimethyltin neurotoxicity in Rats hippocampal expression analyses reveal the involvement of periarterial osteopontin. *Neuroscience* 2008; 153: 1135-45. doi.10.1016/j.neuroscience.2008.01.078.
22. Ye M, Han BH, Kim JS, Kim K, Shim I. Neuroprotective effect of bean phosphatidylserine on tmt induced memory deficits in a Rat model. *Int J Mol Sci* 2020; 21:4901. doi.10.3390/ijms 21144901.
23. Edalatmanesh M A, Sheikholeslami M, Rafiei S. [Evaluation of brain derived neurotrophic factor expression and spatial memory after valproic acid administration in animal model of hippocampal degeneration]. *Feyz* 2018; 22:283-91. (Persian)
24. Marchese E, Corvino V, Di Maria V, Furno A, Giannetti S, Cesari E, et al. The neuroprotective effects of 17 β estradiol pretreatment in a model of neonatal hippocampal injury induced by trimethyltin. *Front Cell Neurosci* 2018; 12:385. doi.10.3389/fncel.2018.00385.
25. Sasai N, Kadoya M, Ong Leechen A. Neural induction historical views and application to pluripotent stem cells. *Dev Growth Dif* 2021;63:26-37. doi.10.1111/dgd.12703.



© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

26. Edalatmanesh MA, Matin MM, Neshati Z, Bahrami AR, Kheirabadi M. Systemic transplantation of mesenchymal stem cells can reduce cognitive and motor deficits in Rats with unilateral lesions of the neostriatum. *Neurol Res* 2010; 32:166-72. doi.10.1179/174313209X409025.
27. Naderimeshkin H, Bahrami AR, Bidkhorri HR, Mirahmadi M, Ahmadiankia N. Strategies to improve homing of mesenchymal stem cells for greater efficacy in stem cell therapy. *Cell Biol Int* 2015; 39:23-34. doi.10.1002/cbin.10378.
28. Garridopascual P, Alonsovarona A, Castro B, Buron M, Palomares T. Hydrogen peroxide preconditioned human adipose derived stem cells enhance the recovery of oligodendrocyte like cells after oxidative stress induced damage. *Int J Mol Sci* 2020; 21:9513. doi.10.3390/ijms21249513.
29. Farfan N, Carril J, Redel M, Zamorano M, Araya M, Monzon E, et al. Intranasal administration of mesenchymal stem cell secretome reduces hippocampal oxidative stress neuroinflammation and cell death, improving the behavioral outcome following perinatal asphyxia. *Int J Mol Sci* 2020; 21:7800. doi.10.3390/ijms21207800.
30. Inan M, Bakar E, Cerkezkayabekir A, Sanal F, Ulucam E, Subaşı C, et al. Mesenchymal stem cells increase antioxidant capacity in intestinal ischemia reperfusion damage. *J Pediatr Surg* 2017; 52:1196-206. doi. 10.1016/j.jpedsurg.2016.12.024.