DOI: 10.48305/jims.v40.i683.0611

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۸۳/هفته‌ی سوم مهر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۱۰ تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۷/۲۱

اثر کورکومین در القای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های عصبی

بی‌بی فاطمه کلالی‌نیا[۱]، آزاده سادات مرتضوی[۲]، سارا عامل فرزاد[۳]، سید کمال کاظمی تبار[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیماری‌های نورودژنراتیو، منجر به اختلال در عملکرد سیستم عصبی و مرگ نورون‌ها می‌شوند. سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از مغز استخوان (Bone marrow-derived mesenchymal stem cells) BM-MSCs می‌توانند در بازسازی سلول‌های نورونی مورد استفاده قرار گیرند. کورکومین جزء فعال ادویه زردچوبه است. هدف از این مطالعه، بررسی امکان القای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به سلول‌های نورون در مجاورت با کورکومین بود.

روش‌ها: در این مطالعه ابتدا BM-MSCs از مغز استخوان رت استخراج و کشت داده شد. میزان سمیت کورکومین روی سلول‌های MSC با استفاده از روش MTT بررسی شد. برای بررسی قدرت القای تمایز به نورون، سلول‌های BM-MSCs در ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در محیط پیش القای تمایز به نورون و سپس به مدت ۶ ساعت در محیط القایی تمایز حاوی BHA و DMSO (کنترل مثبت) و یا حاوی کورکومین کشت داده شدند. نتایج با بررسی ریخت‌شناسی سلولی توسط میکروسکوپ معکوس ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج تست MTT نشان داد که غلظت‌های ۱ تا ۱۰ میکرومولار کورکومین کاهش قابل توجهی در میزان پایایی سلول‌ها در زمان ۴۸ ساعت ایجاد نکردند. نتایج القای تمایز نشان داد که در گروه آزمایشی کورکومین، تمایز سلول‌های BM-MSCs از ساعت دوم به بعد قابل مشاهده بود و از ساعت چهارم به بعد همانند گروه شاهد مثبت، سلول‌ها به صورت توده‌های کروی نوروسفری تغییر شکل دادند.

نتیجه‌گیری: کورکومین با اثر القایی مناسب بر تمایز MSC به سلول‌های پیش‌ساز عصبی می‌تواند به گزینه‌ی مناسب برای مطالعات بعدی جهت معرفی یک داروی مؤثر در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو مطرح باشد.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی مزانشیمی؛ کورکومین؛ بیماری‌های نورودژنراتیو؛ نوروژنز؛ *Curcuma longa* L

ارجاع: کلالی‌نیا بی‌بی فاطمه، مرتضوی آزاده سادات، عامل فرزاد سارا، کاظمی تبار سید کمال. **اثر کورکومین در القای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های عصبی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۸۳): ۶۱۶-۶۱۱

مقدمه

بیماری‌های نورودژنراتیو به بیماری‌هایی همانند آلزایمر، پارکینسون، مالتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis) MS و هانتینگتون اطلاق می‌گردد که منجر به اختلال در عملکرد سیستم عصبی و مرگ نورون‌ها می‌شوند (۱). درمان‌های دارویی متعددی برای این بیماری‌ها وجود دارد که میزان اثربخشی متفاوتی دارند. از طرفی این داروها اغلب عوارض جانبی و تداخل‌های دارویی خطرناکی دارند و این عوامل منجر به محدود شدن اثربخشی این داروها می‌شود. از سوی دیگر، متأسفانه درمان قطعی برای برخی بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آسیب نخاعی وجود ندارد (۲). بنابراین دستیابی به داروهایی با اثرات بهتر و عوارض جانبی کمتر به خصوص با منشأ گیاهی، هدف بسیاری از محققین می‌باشد.

سلول‌های بنیادی، سلول‌های تمایز نیافته‌ای می‌باشند که توانایی خود تکثیری، تولید نسل تمایز یافته‌ی عملکردی و ترمیم بافت بعد از صدمه را دارا هستند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مهم‌ترین سلول‌های بنیادی بالغ است و توان تمایز به چندین دودمان سلولی از

۱- دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، پژوهشکده‌ی فناوری‌های دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- کارشناس ارشد مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۳- دکترای عمومی داروسازی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده‌ی فناوری‌های دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: بی‌بی فاطمه کلالی‌نیا: دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، پژوهشکده‌ی فناوری‌های دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

Email: kalaliniaf@mums.ac.ir

جمله استخوان، عصب، غضروف و کبد را دارند (۳). اگرچه دستیابی به سلول‌های بنیادی بافت‌های عصبی به عنوان منبعی برای درمان بیماری‌های نورودژنراتیو بسیار سخت است، اما بسیاری از مطالعات نشان داده است که استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از مغز استخوان (Bone marrow-mesenshymal stem cells) BM-MSCs به عنوان در دسترس‌ترین سلول بنیادی انسانی می‌تواند در بازسازی سلول‌های نورونی مورد استفاده قرار گیرد. سلول‌های BM-MSCs علاوه بر توانایی مستقیم در تمایز به سلول‌های عصبی، با ترشح سایتوکین‌ها، نوروتروپین‌ها و فاکتورهای رشد مختلف، محیط مناسبی برای بازسازی بافت عصبی ایجاد می‌کنند (٤).

امروزه پژوهشگران به دنبال ترکیباتی هستند که سلول MSC را به سمت تمایز عصبی پیش ببرد. کورکومین (Curcumin) جزء فعال ادویه‌ی زردچوبه است و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدسرطان، ضددیابت، ضدموتاژن (جلوگیری از جهش ژن)، ضد رگ‌زایی، ضدباکتری، ضدویروس، واسطه‌گری سیستم ایمنی، ترمیم زخم و حفاظت سیستم عصبی می‌باشد (۵-۷). گزارش شده است که کورکومین، قادر به جلوگیری از مرگ سلول‌های عصبی در بیماری‌های نورودژنراتیو در مدل حیوانی می‌باشد (٦). بررسی تأثیر کورکوموئیدها (کورکومین، دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین) بر عملکرد عصبی (نوروتروفیک) سلول‌های PC12 پس از مجاورت با فاکتور رشد عصبی (NGF)، نشان داد که کورکوموئیدها درصد سلول‌های عصبی زایشی را به طور قابل توجهی افزایش دادند. به طور همزمان افزایش بیان مارکرهای تمایز عصبی، پروتئین همراه رشد-٤٣ (GAP-43) و ال- نوروفیلامنت (NF-L) تحت اثر کورکوموئیدها مشاهده شد. کورکوموئیدها سیگنال‌های پروتئین کیناز C (Protein kinase C) PKC و پروتئین کیناز تنظیم‌کننده‌ی سیگنال‌های خارج سلولی ۱ و ۲ (ERK1/2) را فعال کردند به گونه‌ای که مهار سیگنال‌های این کینازها منجر به کاهش القاء رشد سلول عصبی توسط کورکوموئیدها می‌شد (۸).

در مطالعه دیگری، مکانیسم اثر کورکومین در کاهش افسردگی ناشی از استرس‌های مزمن در رت مورد بررسی قرار گرفته است. این محققان نشان دادند که مصرف مزمن کورکومین، نوروژنزیس را در هیپوکامپ رت‌های تحت استرس مزمن افزایش می‌دهد. این سلول‌های جدید قادر بودند بالغ شده و به نورون تبدیل شوند (۵). بنابراین بر اساس آنچه گفته شد به نظر می‌رسد کورکومین می‌تواند ترکیبی مؤثر در درمان بیماری‌هایی باشد که نیاز به نوروژنزیس دارند.

بر اساس اطلاعات ما، تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد استفاده از کورکومین جهت القای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به نورون **منتشر** نشده است، لذا در این مطالعه قصد داریم تأثیر کورکومین را در القای تمایز سلول‌های BM-MSCs به سمت سلول‌های عصبی مورد بررسی قرار دهیم. نتایج این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در مورد امکان استفاده از روش‌های مؤثرتر و نیز مواد ارزان‌تر و بی‌ضررتر جهت درمان بیماری‌های نورودژنراتیو در اختیار قرار دهد.

روش‌ها

مواد: پودر تجاری کورکومین، تیازولیل بلو تترازولیوم بلو (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, MTT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (Butylated hydroxyanisole) BHA و بتامرکاپتواتانل (Beta mercaptoethanol) BME از شرکت سیگما، آلمان خریداری شد. کلروفرم، دی متیل سولفوکساید (Dimethyl sulfoxide) DMSO و سرم جنین گاوی (Fetal Bovine serum) FBS از شرکت مرک آلمان و محیط کشت (Dulbecco Modified Eagle Medium) DMEM و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین از شرکت Bio Idea ایران خریداری شدند.

تهیه‌ی محلول کورکومین: از پودر تجاری کورکومین (شرکت سیگما) محلول ۱۷٦ میلی‌مولار در محیط کشت DMEM تهیه و در ٤- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار کورکومین در روز آزمایش از استوک کورکومین برای تیمار سلول‌ها تهیه گردید.

جداسازی و کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان: موش‌های صحرایی بالغ نژاد ویستار (۹ هفته با وزن حدود ۲۵۰-۲۰۰ گرم) به وسیله‌ی کلروفرم کشته شدند و محتویات مغز استخوان‌های فمور و تیبیای آن‌ها در فلاسک مخصوص کشت سلولی تخلیه شد. فلاسک، داخل انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO2 پنج درصد نگهداری شد. پس از ۷۲ ساعت محیط کشت سلول‌ها تخلیه شده و با PBS شسته شدند و محیط کشت تازه به فلاسک کشت اضافه شد. پس از آنکه سلول‌ها به تراکم ۷۰ تا ۸۰ درصد رسیدند، سلول‌ها پاساژ داده شدند. هویت سلول‌های بنیادی به روش فلو سایتومتری و با اندازه‌گیری مارکرهای سطح سلولی اختصاصی آن‌ها تأیید شد.

بررسی سمیت کورکومین: به منظور استفاده از کورکومین، در قدم اول میزان سمیت آن بر سلول‌های BM-MSCs به روش MTT بررسی شد. در این روش میزان 10^4 سلول در هر چاهک پلیت ۹٦ خانه در مجاورت محیط کشت حاوی غلظت‌های متفاوت کورکومین کشت داده شدند. در چاهک‌های فاقد عصاره (غلظت صفر) به عنوان گروه شاهد، سلول‌ها تنها همراه محیط کشت DMEM، حاوی ۱۰ درصد FBS انکوبه شدند. پس از انکوباسیون

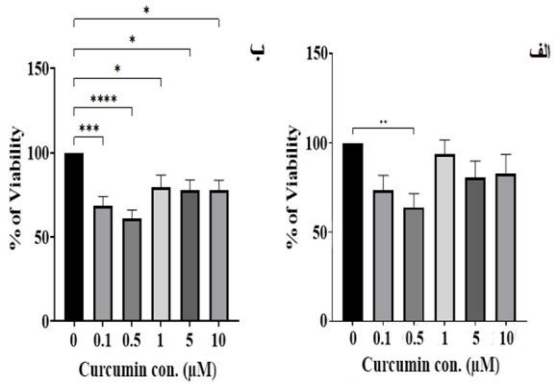
در مدت زمان ۴۸ و ۷۲، ساعت، به هر چاهک ۱۰ میکرو لیتر از محلول MTT ۵ mg/ml اضافه شد و به مدت ٤ ساعت دیگر درانکوباتور ۳۷ °C انکوبه شدند. سپس محیط کشت حاوی MTT به دقت خارج شد و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول DMSO جهت حل کردن کریستال‌های فورمازان اضافه گردید. در نهایت جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج ۵۷۰ در مقابل طول موج رفرانس ٦۳۰ نانومتر خوانده شد و درصد بقای سلولی بر مبنای (جذب نوری تست/جذب نوری کنترل) × ۱۰۰ محاسبه گردید.

القای تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های عصبی: در ابتدا سلول‌های MSC در پلیت ٢٤ خانه حاوی DMEM با گلوکز پایین، آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین- استرپتومایسین یک درصد و FBS ۱۰ درصد کشت داده شدند و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس، محیط کشت با محیط کشت پیش‌القایی (Preinduction media) حاوی DMEM با گلوکز پایین حاوی آنتی‌بیوتیک، FBS ۲۰ درصد و BME یک میلی‌مولار جایگزین شد و پلیت‌ها به مدت ٢٤ ساعت دیگر انکوبه شدند. در روز سوم، محیط کشت پیش‌القایی چاهک‌های مربوط به کنترل مثبت با محیط کشت القایی (Induction media) حاوی BME پنج میلی‌مولار یا محیط کشت القایی حاوی DMSO دو درصد و BHA صد میلی‌مولار جایگزین شد و پلیت به مدت شش ساعت انکوبه گردید (۹-۱۳). در گروه آزمایش، محیط کشت پیش‌القایی با محیط کشت حاوی کورکومین با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار به مدت شش ساعت انکوبه شدند. در این مدت، هر ساعت یکبار از چاهک‌ها به کمک میکروسکوپ اینورت عکسبرداری شد.

جهت بررسی‌های آماری یافته‌های به دست آمده از نرم‌افزار Prism 9.0 و به منظور مقایسه‌ی بین گروه‌های مختلف از تست ANOVA و T-test استفاده شد. در این مطالعه $P < ۰/۰۵$ سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. این مطالعه مصوب دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد ۹٤۱۰٦۹ و کمیته‌ی منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی با کد IR.MUMS.REC.1395.57 می‌باشد.

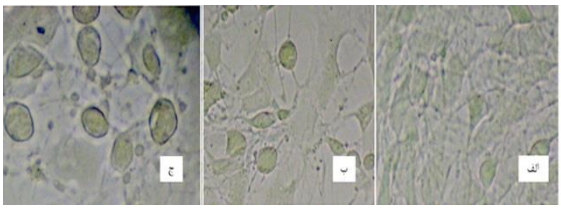
یافته‌ها

بررسی سمیت کورکومین: نتایج بررسی میزان سمیت کورکومین به روش MTT نشان داد که میزان سمیت کورکومین بر روی سلول‌ها وابسته به غلظت نیست اما با فزایش زمان مجاورت افزایش می‌یابد (شکل ۱). تأثیر کورکومین بر زنده مانی سلول‌ها در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میکرو مولار در زمان ٤٨ ساعت تفاوت معنی‌داری نسبت به نمونه‌ی شاهد منفی نداشت. فقط در زمان ۷۲ ساعت حداکثر میزان کاهش رشد توسط مجاورت با غلظت ۰/۵ میکرومولار و به میزان ٤/۹ ± ٦۱/۲۰ درصد نسبت به نمونه‌ی کنترل بود. لذا در سایر آزمایشات از غلظت‌های ۱ و ۵ میکرو مولار استفاده شد.

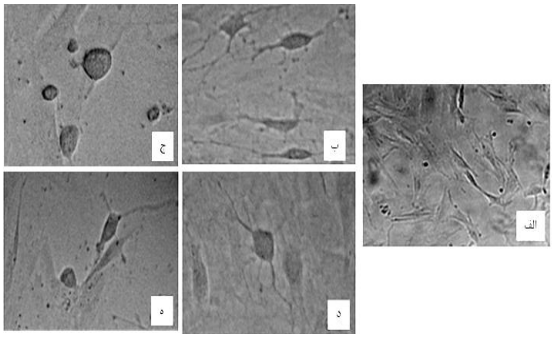


شکل ۱. بررسی سمیت کورکومین بر سلول‌های BM-MSCs در الف) ٤٨ و ب) ۷۲ ساعت. سلول‌ها همراه غلظت‌های مختلف کورکومین به مدت ٤٨ و ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد انکوبه شدند. سپس با استفاده از تست MTT میزان سمیت بررسی شد. نتایج حاصل حداقل ۳ بار آزمایش هر بار ۳ تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است. معنی‌دار بودن نسبت به گروه شاهد (غلظت صفر) بدین صورت نشان داده شد: $۰/۰۵ \geq P > ۰/۰۱$ با * ، $۰/۰۱ \geq P > ۰/۰۰۱$ با ** و $۰/۰۰۱ \geq P > ۰/۰۰۰۱$ با * و $۰/۰۰۰۱ \geq P$ با ****.**

القای سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های عصبی: همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در گروه شاهد مثبت دریافت‌کننده‌ی BHA، سلول‌ها با سرعت بیشتری تمایز پیدا کردند و از ساعت دوم به بعد اغلب سلول‌های BM-MSCs تبدیل به نورون شدند به گونه‌ای که زوائد طویل سلول‌های نورونی در شکل به خوبی قابل مشاهده است. چهار ساعت پس از القای تمایز، سلول‌ها به صورت توده‌های نوروسفری درآمدند. در گروه آزمایشی کورکومین، تمایز سلول‌های BM-MSCs از ساعت دوم به بعد قابل مشاهده بود. از ساعت چهارم به بعد همانند گروه شاهد مثبت، سلول‌ها به صورت توده‌های کروی نوروسفری تغییر شکل دادند (شکل ۳).



شکل۲. القای تمایز سلول‌های BM-MSCs توسط BHA پس از الف) ۱، ب) ۲، و ج) ٤ ساعت



شکل ۳. القای سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های عصبی توسط کورکومین. گروه شاهد منفی (الف)، سلول‌های BM-MSCs پس از القای تمایز توسط کورکومین ۱ میکرومولار پس از ۲ (ب) و ٤ (ج) ساعت و سلول‌های BM-MSCs پس از القاء توسط کورکومین ۵ میکرومولار پس از ۲ (د) و ٤ (ه) ساعت

بحث

هدف از این مطالعه، بررسی امکان القای تمایز سلول‌های BM-MSCs به سلول‌های نورون در مجاورت با کورکومین جزء فعال ادویه‌ی زردچوبه در مقایسه با محیط استاندارد القای تمایز به نورون بود. در ابتدا میزان سمیت کورکومین بر سلول‌های BM-MSCs بررسی شد که نتایج نشان داد، غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰میکرومولار در زمان ٤٨ ساعت سمیت قابل ملاحظه‌ای ندارد.

در مطالعه‌ی Yang و همکاران در سال ۲۰۲۱ نیز نشان داده شده است که غلظت‌های ۰/۰۱ تا ۲۵ میکرومولار کورکومین، تأثیر قابل توجهی بر زنده ماندن سلول‌های بنیادی مزانشیمی hBM-MSC ندارد (١٤). همچنین نشان داده شده است که کورکومین در غلظت کم، باعث افزایش تکثیر و در غلظت‌های بالا باعث مهار رشد سلول‌های بنیادی عصبی می‌شود (٦).

Ho و همکاران برای تمایز MSCs به رده‌ی سلول‌های عصبی از القاکننده‌های مختلفی استفاده نمودند. از بین این القاگرها می‌توان به رتینوئیک اسید به همراه فاکتورهای رشد، BME به همراه BHA، ایزوبوتیل متیل گزانتین به همراه cAMP، و ۵- آزا سیتیدین به همراه فاکتورهای رشد اشاره کرد (١٥).

Woodbury و همکاران، سلول‌های بنیادی مزانشیمی را به مدت ٢٤ ساعت در محیط کشت DMEM حاوی 20 درصد FBS به مدت ٢٤ ساعت کشت داده و سپس محیط رویی سلول‌ها را با محیط پیش‌القایی 20 /DMEM٪ FBS/ BME 1mM جایگزین کردند. پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون، برای شروع تمایز عصبی، محیط‌های پیش‌القایی حذف شدند، و سلول‌ها به محیط القایی عصبی متشکل از DMEM /BME 1-10 mM به عنوان کنترل مثبت محیط حاوی DMEM / DMSO 2 % /BHA 200 mM انتقال داده شدند.

نتایج نشان داد که در مدت ٦٠ دقیقه از قرار گرفتن در معرض محیط القایی، تغییرات در مورفولوژی برخی از MSCها آشکار بودند و در طول ۳ ساعت اول، مورفولوژی نورونی کاملاً واضح بود (۹).

Zeng و همکاران، جهت بررسی اثرات سایتوکین‌ها و فاکتورهای آنتی‌اکسیدانت بر نوروژنز سلول‌های بنیادی از روش مشابهی استفاده کردند و سلول‌ها را در مجاورت محیط القایی حاوی DMEM /edaravone 20µg/ml ،DMEM/10mM BME و DMEM/ EGF&bFGF 20ng/ml برای مدت ٦ ساعت قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که hBMSCها دارای پتانسیل زیادی برای تمایز به نورون‌های عملکردی هستند (۱۰). مطالعات مشابه نیز نشان داده‌اند که محیط استاندارد نوروژنز حاوی BME به همراه BHA و زمان القای بین ۱ تا ٦ ساعت می‌تواند برای القای اولیه‌ی تمایز نورونی کافی باشد (۹-۱۳).

در این مطالعه، از BME در محیط پیش‌القای تمایز و از BHA در محیط القایی در گروه شاهد مثبت استفاده شد. بررسی قدرت تمایز به نورون سلول‌های BM-MSCs تحت تأثیر کورکومین ۱ و ۵ میکرومولار نشان داد که سلول‌های مجاور شده با کورکومین، رفتار تمایزی مشابهی با سلول‌های گروه شاهد مثبت داشتند. این تأثیرات کورکومین در مطالعات دیگر بر سلول‌های بنیادی عصبی نیز نشان داده شده است. کورکومین می‌تواند به طور قابل توجهی بیان ژن‌های دخیل در تکثیر NSC (به عنوان مثال Reelin، Nestin، وPax6) و تمایز آن‌ها (به عنوان مثال نوروژنین، neuroD1، نورولین، نورولیژین وSTAT3) را افزایش دهد (١٦، ١٧). بررسی توانایی القای عصبی کورکومین ۵ میکرومولار بر سلول‌های پرتوان جنین انسانی NTERA2، نشان داد که کورکومین می‌تواند این سلول‌ها را به سمت دودمان عصبی القا کند.

کورکومین، نوروژنز سلول‌های NTERA2 را از طریق فعال‌سازی اتوفاژی فعال کرد. این تمایز عصبی کورکومین با واسطه‌ی اتوفاژی به روشی وابسته به ROS بود (۱۸). اتوفاژی، یک مسیر بسیار منظم است که اندامک‌های آسیب دیده و سیتوپلاسمی را برای تجزیه به لیزوزوم‌ها منتقل می‌کند. این اصطلاحاً خویشتن‌خواری برای حفظ انرژی سلولی ضروری بوده و به رشد، توسعه و تمایز سلولی کمک می‌کند (۱۹).

مطالعه‌ی تأثیر نانوذرات حاوی کورکومین ۰/۵ میکرومولار بر سلول‌های بنیادی عصبی، نشان داد که نانوذارت حاوی کورکومین به طور قابل توجهی بیان ژن‌های دخیل در تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد، ضمن آن‌که با فعال کردن مسیر Wnt- بتاکاتنین که در تنظیم نوروژنز نقش دارد، تمایز عصبی را افزایش می‌دهد (۱۷). مطالعه‌ی عملکرد کورکومین با غلظت ۱۵۰ mg/kg بر سلول‌های بنیادی عصبی در مدل موشی، نشان داد که کورکومین، تکثیر NSCs را فعال می‌کند،

نوروژنز را بهبود می‌بخشد و اختلال شناختی موش‌های مبتلا به آلزایمر را بهبود می‌بخشد (۲۰).

نتیجه‌گیری

ما در این مطالعه نشان دادیم که سلول‌های MSCs بعد از القاء توسط کورکومین و در مجاورت با BHA، سلول‌ها به پیش‌ساز نورونی تمایز پیدا می‌کنند. در نتیجه به نظر می‌رسد استفاده از کورکومین بر روی سلول‌های MSC به منظور القاء و ایجاد سلول‌های پیش‌ساز عصبی می‌تواند در آینده درمان مؤثری برای بیماری‌های نورودژنراتیو همچون آلزایمر و پارکینسون باشد. این مطالعه مصوب دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد ۹٤۱۰٦۹ و کمیته‌ی منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی با کد IR.MUMS.REC.1395.57 می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، بخاطر حمایت مالی از این پروژه تشکر می کنند.

References

1. Tatton WG, Olanow CW. Apoptosis in neurodegenerative diseases: the role of mitochondria. Biochim Biophys Acta 1999; 1410(2): 195-213.
2. Xu J, Lacoske MH, Theodorakis EA. Neurotrophic natural products: chemistry and biology. Angew Chem Int Ed Engl 2014; 53(4): 956-87.
3. Rodríguez-Fuentes DE, Fernández-Garza LE, Samia-Meza JA, Barrera-Barrera SA, Caplan AI, Barrera-Saldaña HA. Mesenchymal stem cells current clinical applications: A systematic review. Arch Med Res 2021; 52(1): 93-101.
4. Andrzejewska A, Dabrowska S, Lukomska B, Janowski M. Mesenchymal stem cells for neurological disorders. Adv Sci (Weinh) 2021; 8(7): 2002944.
5. Xu Y, Ku B, Cui L, Li X, Barish PA, Foster TC, et al. Curcumin reverses impaired hippocampal neurogenesis and increases serotonin receptor 1A mRNA and brain-derived neurotrophic factor expression in chronically stressed rats. Brain Res 2007; 1162: 9-18.
6. Kim SJ, Son TG, Park HR, Park M, Kim MS, Kim HS, et al. Curcumin stimulates proliferation of embryonic neural progenitor cells and neurogenesis in the adult hippocampus. J Biol Chem 2008; 283(21): 14497-505.
7. Oglah MK, Mustafa YF, Bashir MK, Jasim MH. Curcumin and its derivatives: A review of their biological activities. Sys Rev Pharm 2020; 11(3): 472-81.
8. Liao KK, Wu MJ, Chen PY, Huang SW, Chiu SJ, Ho CT, et al. Curcuminoids promote neurite outgrowth in PC12 cells through MAPK/ERK- and PKC-dependent pathways. J Agric Food Chem 2012; 60(1): 433-43.
9. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neurosci Res 2000; 61(4): 364-70.
10. Zeng R, Wang LW, Hu ZB, Guo WT, Wei JS, Lin H, et al. Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neuron-like cells in vitro. Spine 2011; 36(13): 997-1005.
11. Krampera M, Marconi S, Pasini A, Galie M, Rigotti G, Mosna F, et al. Induction of neural-like differentiation in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, fat, spleen and thymus. Bone 2007; 40(2): 382-90.
12. Liu H, Xue WJ, Xie YF, Feng XS, Huo FQ. Tea polyphenol-induced neuron-like differentiation of mouse mesenchymal stem cells. Chin J Physiol 2011; 54(2): 111-7.
13. Wei L, Fraser JL, Lu ZY, Hu X, Yu SP. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats. Neurobiol Dis 2012; 46(3): 635-45.
14. Yang Q, Leong SA, Chan KP, Yuan XL, Ng TK. Complex effect of continuous curcumin exposure on human bone marrow-derived mesenchymal stem cell regenerative properties through matrix metalloproteinase regulation. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2021; 128(1): 141-53.
15. Ho TJ, Chan TM, Ho LI, Lai CY, Lin CH, Macdonald I, et al. The possible role of stem cells in acupuncture treatment for neurodegenerative diseases: a literature review of basic studies. Cell Transplant 2014; 23(4-5): 559-66.
16. Heidari S, Mahdiani S, Hashemi M, Kalalinia F. Recent advances in neurogenic and neuroprotective effects of curcumin through the induction of neural stem cells. Biotechnol Appl Biochem 2020; 67(3): 430-41.
17. Tiwari SK, Agarwal S, Seth B, Yadav A, Nair S, Bhatnagar P, et al. Curcumin-loaded nanoparticles potently induce adult neurogenesis and reverse cognitive deficits in Alzheimer's disease model via canonical Wnt/β-catenin pathway. ACS Nano 2014; 8(1): 76-103.
18. Heebkaew N, Rujanapun N, Kunhorm P, Jaroonwitchawan T, Chaicharoenaudomrung N, Promjantuek W, et al. Curcumin induces neural differentiation of human pluripotent embryonal carcinoma cells through the activation of autophagy. Biomed Res Int 2019; 2019: 4378710.
19. Wang JL, Wang JJ, Cai ZN, Xu CJ. The effect of curcumin on the differentiation, apoptosis and cell cycle of neural stem cells is mediated through inhibiting autophagy by the modulation of Atg7 and p62. Int J Mol Med 2018; 42(5): 2481-8.
20. Li J, Han Y, Li M, Nie C. Curcumin promotes proliferation of adult neural stem cells and the birth of neurons in Alzheimer's disease mice via notch signaling pathway. Cell Reprogram 2019; 21(3): 152-61.

DOI: *10.48305/jims.v40.i683.0611*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 683, 3rd Week, October 2022**

Received: 08.05.2022 Accepted: 02.10.2022 Published: 13.10.2022

The Effect of Curcumin on Inducing Differentiation of Mesenchymal Stem Cells into Neurons

Bibi Fatemeh Kalalinia[1], Azadeh Sadat Mortazavi[2], Sara Amel Farzad[3], Seyed Kamal Kazemi-Tabar[4]

Original Article

Abstract

Background: Neurodegenerative diseases lead to the death of neurons and dysfunction of the nervous system. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) can be used in the regeneration of neuronal cells. Curcumin is the active ingredient of *Curcuma longa*. The purpose of this study was to examine neurogenerative induction effects of curcumin on the BM-MSCs.

Methods: The MSCs were extracted from rats. The cytotoxic effects of curcumin on the MSCs were evaluated by MTT assay. For the purpose of evaluating the induction of neuron differentiation, BM-MSCs were cultured with pre-induction medium for 24 h and then in inductive medium containing curcumin or BHA and DMSO (positive control). The results were evaluated by examining cell morphology via inverted microscope.

Findings: The results of the MTT test showed that curcumin (1, 5 and 10 µM) did not affect the growth rate of MSC cells. The results of induction of neuron differentiation showed that the differentiation of BM-MSCs cells was visible from the second hour under treatment with curcumin. While, during the fourth hour onwards, the BM-MSCs were transformed into spherical neurosphere masses like those that were treated in the positive control group.

Conclusion: Curcumin with a suitable inducing effect on the differentiation of MSC into neural progenitor cells can be considered as a potential agent for further studies to introduce an effective drug in the treatment of neurodegenerative diseases.

Keywords: Mesenchymal Stem Cells; Curcumin; Neurodegenerative Diseases; Neurogenesis; *Curcuma longa* L

Citation: Kalalinia F, Mortazavi AS, Amel Farzad S, Kazemi-Tabar SK, **The Effect of Curcumin on Inducing Differentiation of Mesenchymal Stem Cells into Neurons**. **The effect of curcumin on inducing differentiation of mesenchymal stem cells into neurons.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(683): 611-6.

1- Associate Professor, Biotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
2- Master of Agricultural Engineering majoring in Biotechnology, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran
3- Pharm D, Pharmaceutical Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
4- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Sari University of Agricultural Science and Natural Resource, Sari, Iran
Corresponding Author: Bibi Fatemeh Kalalinia, Associate Professor, Biotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran; Email: kalaliniaf@mums.ac.ir