مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۷۶/هفته اول اردیبهشت ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۳

سلژیلین عامل افزایش تمایز سلول‌های بنیادی عصبی موش به نورون

دکتر کامبیز حسن‌زاده[۱]، دکتر روح‌اله مولودی[۲]، مهرنوش نیک‌زبان[۳]، هامون مقبل[۴]، دکتر اسماعیل ایزدپناه[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعه‌ی تأثیر عوامل مختلف بر تمایز سلول‌های بنیادی عصبی، به دلیل قابلیت استفاده از این سلول‌ها در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این مطالعه تأثیر سلژیلین بر میزان تمایز سلول‌های بنیادی عصبی موش مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: سلول‌های بنیادی عصبی از دیواره‌ی بطن‌های جانبی مغز موش‌های نر ۳-۲ ماهه نژاد C۵۷ جداسازی شد. به منظور ارزیابی اثر سلژیلین بر درصد تمایز سلول‌های بنیادی عصبی به نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت از تکنیک ایمونوسیتوشیمی استفاده شد. سلول‌های بنیادی عصبی در معرض غلظت‌های مختلف سلژیلین (10^{-9}، 10^{-8}، 10^{-7} و 10^{-6} مولار) با دوره‌ی زمانی ۷ روزه قرار داده شدند. در پایان این دوره، نمونه‌ها در معرض آنتی بادی‌های اختصاصی بر علیه نورون (β tubulin)، آستروسیت (GFAP یا Glial fibrillary acidic protein) و الیگودندروسیت (OSP یا Oligodendrocyte-specific protein) قرار گرفتند. تعداد سلول‌های تمایز یافته، شمارش و به صورت درصد نسبت به کل سلول‌ها گزارش شد.

یافته‌ها: سلژیلین سلول‌های β tubulin مثبت را در غلظت‌های 10^{-9}، 10^{-8} و 10^{-7} مولار افزایش و سلول‌های GFAP مثبت را در غلظت 10^{-6} مولار به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد.

نتیجه‌گیری: سلژیلین میزان تمایز به نورون را در سلول‌های بنیادی عصبی افزایش می‌دهد و احتمال می‌رود بتوان از این دارو در آماده کردن سلول‌های بنیادی عصبی جهت پیوند استفاده کرد.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی عصبی، سلژیلین، تمایز

ارجاع: حسن‌زاده کامبیز، مولودی روح‌اله، نیک‌زبان مهرنوش، مقبل هامون، ایزدپناه اسماعیل. **سلژیلین عامل افزایش تمایز سلول‌های بنیادی عصبی موش به نورون.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۷۶): ۲۱۹-۲۱۲

مقدمه

سلول‌های بنیادی عصبی (Neural stem cells یا NSCs) به عنوان یک ابزار درمانی برای ترمیم اختلالات CNS (Central nervous system) از پتانسیل زیادی برخوردار هستند. این سلول‌ها در محیط آزمایشگاه قادر به تکثیر هستند، بدون این که طی مراحل تکثیر، خاصیت چند استعدادی خود را از دست دهند (۲-۱). مطالعات نشان داده‌اند که NSCs در تکامل سیستم عصبی جنینی نقش اساسی دارند و همچنین در بزرگسالی، توانایی خود تجدیدی این سلول‌ها می تواند در عملکردهایی مانند یادگیری، حافظه و پاسخ به آسیب، تأثیرگذار باشد (۳).

۱- استادیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۲- استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۳- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۴- دانشجوی پزشکی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر اسماعیل ایزدپناه
Email: eizadpanah2000@yahoo.com

در چند سال اخیر، توجه زیادی به سلول‌های بنیادی عصبی به عنوان یک عامل درمانی در بیماری‌های نورودژنراتیو معطوف شده است. این سلول‌ها می‌توانند به انواع مختلف سلول‌ها در CNS شامل نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت تمایز یابند (۵-۴). همچنین آن‌ها قادرند حمایت‌های ساختاری و شیمیایی برای بافت‌های آسیب دیده را فراهم کنند (۷-۶).

مطالعات دیگر نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی عصبی انسانی، بازسازی اکسون‌های کورتیکواسپاینال را ارتقا می‌بخشند و با نورون‌های میزبان بعد از پیوند، سیناپس تشکیل می‌دهند (۸). از این سلول‌ها در مدل‌های مختلف اختلالات نورودژنراتیو و تروماتیک CNS از جمله ضایعه‌ی نخاعی (۹)، ایسکمی مغزی (۱۰)، پارکینسون (۱۱)، آسیب تروماتیک مغزی (۱۲) و نوروپاتی (۱۳) استفاده شده است.

اما مسأله‌ای که مطرح است، این است که سلول‌های بنیادی عصبی بعد از پیوند اغلب به آستروسیت تمایز پیدا می‌کنند (۱۸، ۱۵-۱۴) و این مسأله می‌تواند مشکلاتی مانند آلودینیا ایجاد کند که استفاده از این سلول‌ها را با محدودیت روبه‌رو کرده است (۱۶). بنابراین یافتن عواملی که بتوانند روی درصد تمایز این سلول‌ها در شرایط In vitro و In vivo تأثیر بگذارند، از اهمیت زیادی برخوردار است.

از طرفی، مطالعات پیشین حاکی از آن است که سلژیلین به عنوان یک مهار کننده‌ی غیر قابل برگشت مونو آمین اکسیداز نوع B (MAO-B) روی تمایز به نورون در سلول‌های دارای منشأ جنینی و بافت چربی مؤثر می‌باشد (۱۸-۱۷).

این دارو در درمان بیماری پارکینسون به طور معمول استفاده می‌شود و اثر دوپامین را تقویت می‌نماید (۱۹). از طرفی سلژیلین، مرگ نورون‌های حرکتی فاسیال بعد از اکسوتومی در رت‌های نابالغ (۲۰) و تولید رادیکال‌های آزاد (۲۱) را کاهش می‌دهد. همچنین گزارش شده است که این دارو آپوپتوز القا شده توسط هیپوکسی و حذف عوامل رشد از محیط کشت نورون‌های شبکیه را هم مهار می‌کند (۲۲).

با توجه به مطالب بیان شده در این مطالعه‌ی پایه، تأثیر سلژیلین بر میزان تمایز سلول‌های بنیادی عصبی موش به سلول‌های عصبی و گلیال بررسی و مقایسه شد.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر به صورت تجربی و روی سلول‌های جداسازی شده از دیواره‌ی بطن‌های جانبی مغز موش‌های C۵۷ انجام گرفت. نمونه‌های مورد مطالعه، سلول‌های بنیادی عصبی بودند. این سلول‌ها از قبل در آزمایشگاه از مکان‌های پیش‌گفته جداسازی و ذخیره شده بودند و به طور تصادفی انتخاب شدند تا مطالعه روی آن‌ها انجام شود (۲۵-۲۳).

القای تمایز سلول‌های بنیادی عصبی به سلول‌های عصبی و گلیال

به منظور القای تمایز سلول‌های بنیادی عصبی به سلول‌های عصبی و گلیال، پس از تبدیل توده‌های سلولی به سلول‌های منفرد توسط تریپسین، این سلول‌ها بر روی لامل‌های تیمار شده با Poly-D-lysine و لامینین (Sigma) کشت داده شدند و به مدت ۷ روز در معرض محیط تمایز (DMEM-F۱۲ و مکمل B۲۷ و ۱ درصد FBS یا Fetal bovine serum) و غلظت‌های

مختلف سلژیلین (10^{-9}، 10^{-8}، 10^{-7} و 10^{-6} مولار) قرار داده شدند (۱۸-۱۷).

ارزیابی‌های ایمونوسیتوشیمی

برای شناسایی انواع مختلف سلول‌های عصبی، از روش ایمونوسیتوشیمی با استفاده از آنتی بادی‌های اختصاصی نورون (Abcam, U.K Beta tubulin III)، الیگودندروسیت (OSP, Abcam, U.K) و آستروسیت (GFAP, Abcam, U.K) بهره گرفته شد. بعد از سپری شدن زمان مورد نظر (۷ روز)، سلول‌ها از انکوباتور خارج شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در معرض پارافرمالدئید ۴ درصد قرار گرفتند و بعد در دو مرحله با PBS (Phosphate buffered saline) شسته شدند و در مرحله‌ی بعد، از بافر بلاک کننده حاوی Triton X-۱۰۰ و BSA (Bovine serum albumin) به ترتیب برای نفوذ پذیر کردن سلول‌ها و پوشاندن مکان‌های غیر اختصاصی استفاده گردید. به دنبال آن، لامل‌ها در معرض آنتی بادی‌های اولیه‌ی آنتی β tubulin III (۱:۵۰۰)، آنتی GFAP (۱:۵۰۰) و آنتی OSP (۱:۱۰۰) به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. در روز بعد، آنتی بادی‌های اولیه خارج و در دو مرحله با PBS شستشو انجام شد و آنتی بادی‌های ثانویه‌ی کونژوگه با Texas red در محیط تاریک و مرطوب به مدت یک ساعت اضافه گردید. در نهایت پس از شستشو با PBS، از Vectashield hard set حاوی Dapi (برای شناسایی هسته‌ی سلول‌ها) جهت چسباندن لامل‌ها استفاده شد. به منظور مشاهده و عکس‌برداری، از میکروسکوپ فلورسنت Olympus مدل IX۷۱ استفاده گردید (۲۶).

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد درصد سلول‌های تمایز یافته نسبت به کل سلول‌ها گزارش شد. هر آزمایش سه بار تکرار و از هر لامل، ده فیلد میکروسکوپی به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. جهت مقایسه‌ی داده‌ها ازآنالیز آماری One-way ANOVA (One-way analysis of variance) استفاده گردید و $P < ۰/۰۵۰$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تمایز سلول‌های بنیادی عصبی به نورون، آستروسیت و الیگودندروسیت

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، سلول‌های بنیادی عصبی بعد از قرار گرفتن در محیط تمایز، به نورون (الف) آستروسیت (ب) و الیگودندروسیت (ج) تمایز پیدا کردند که البته در گروه‌های مختلف همان‌طور که در نمودارها نشان داده شده است، درصد تمایز به این سلول‌ها متفاوت بود.

مقایسه‌ی تأثیر سلژیلین بر تمایز به نورون

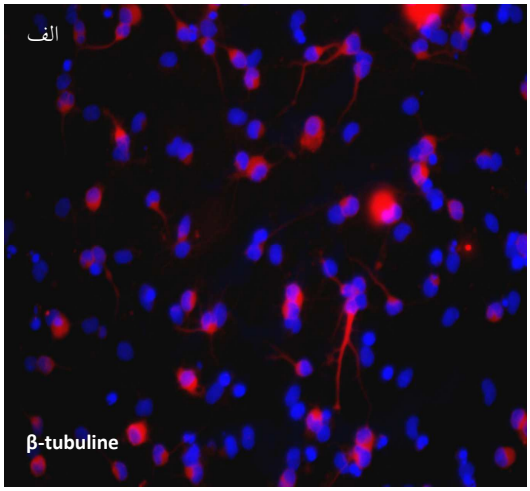
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، درصد تمایز به نورون در دوره‌ی ۷ روزه در غلظت‌های $۹-۱۰^{-۸}$ و $۷-۱۰$ مولار به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد و غلظت $۷-۱۰$ مؤثرترین غلظت در القای تمایز به نورون بود ($P < ۰/۰۰۱$).

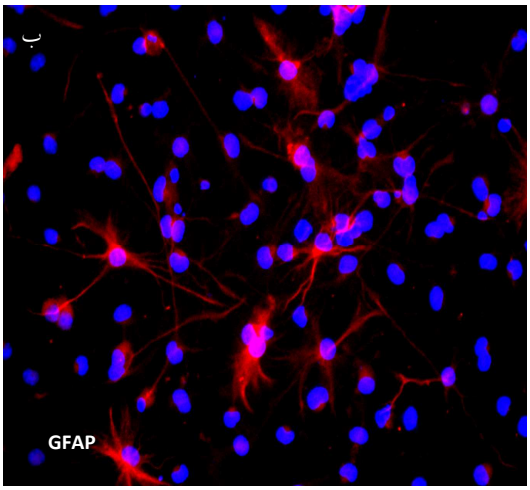
مقایسه‌ی تأثیر سلژیلین بر تمایز به آستروسیت

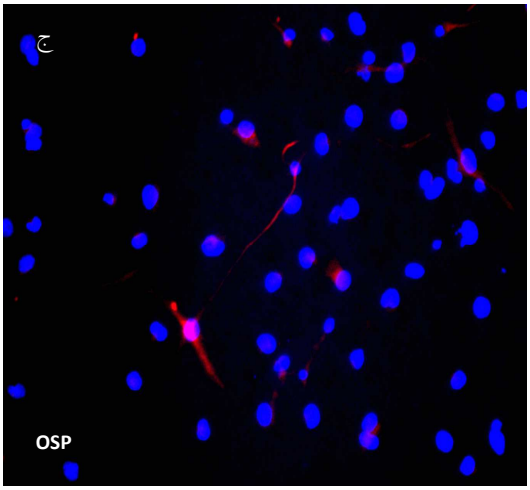
همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، درصد تمایز به آستروسیت در دوره‌ی زمانی ۷ روزه در غلظت 10^{-6} مولار به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش نشان داد ($P < ۰/۰۱۰$).

مقایسه‌ی تأثیر سلژیلین بر تمایز به الیگودندروسیت

سلژیلین بر درصد تمایز به الیگودندروسیت در دوره‌ی زمانی ۷ روزه تغییر معنی‌داری نسبت به شاهد ایجاد نکرد (شکل ۴).

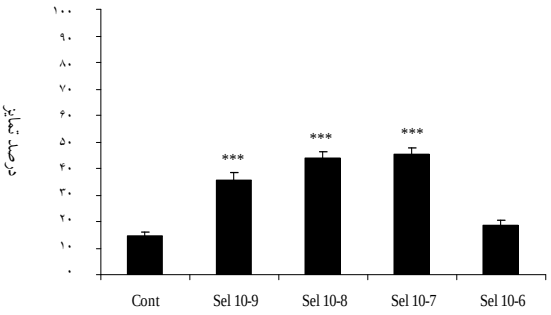






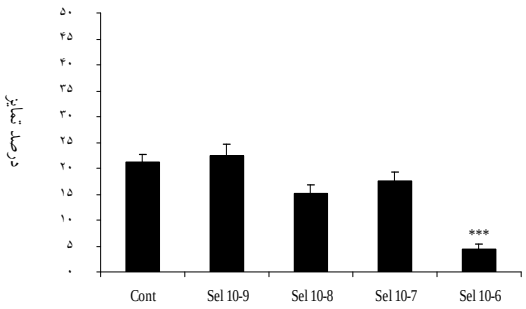
شکل ۱. تصاویر مربوط به تمایز سلول‌های بنیادی عصبی موش به نورون (بیان نشانگر B-tubuline)، آستروسیت (بیان نشانگر GFAP) و الیگودندروسیت (بیان نشانگر OSP). بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر.

GFAP: Glial fibrillary acidic protein,
OSP: Oligodendrocyte specific protein



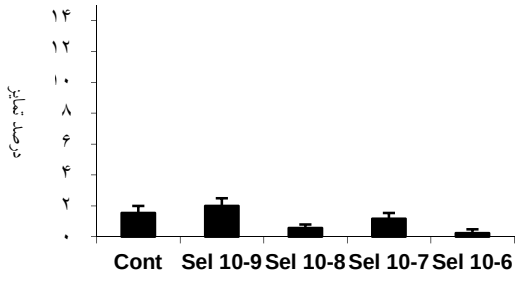
شکل ۲. مقایسه‌ی تأثیر سلژیلین بر درصد تمایز به نورون در سلول‌های بنیادی عصبی موش در دوره‌ی زمانی ۷ روزه. هر ستون بیانگر میانگین ± انحراف معیار درصد تمایز به نورون در ۳۰ فیلد میکروسکوپی می‌باشد.

***P < ۰/۰۰۱ نشانگر اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد است.



شکل ۳. مقایسه تأثیر سلژیلین بر درصد تمایز به آستروسیت در سلولهای بنیادی عصبی موش در دوره زمانی ۷ روزه. هر ستون بیانگر میانگین ± SEM درصد تمایز به نورون در ۳۰ فیلد میکروسکوپی می باشد.

***P< ۰/۰۰۱ نشانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل می باشد.



شکل ۴. مقایسه تأثیر سلژیلین بر درصد تمایز به الیگودندروسیت در سلول‌های بنیادی عصبی موش در دوره‌ی زمانی ۷ روزه. هر ستون بیانگر میانگین ± انحراف معیار درصد تمایز به نورون در ۳۰ فیلد میکروسکوپی می‌باشد.

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که درصد تمایز به نورون در غلظت‌های 10^{-9}، 10^{-8} و 10^{-7} مولار سلژیلین به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد و در این میان، غلظت 10^{-7} مولار مؤثرترین غلظت در افزایش تمایز به نورون بود. از طرفی، درصد تمایز به آستروسیت در غلظت 10^{-6} به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. از نظر تمایز به الیگودندروسیت، تفاوت معنی‌داری در دوره‌ی زمانی فوق مشاهده نشد.

نتایج مطالعات مشابه در رابطه با تأثیر سلژیلین بر القای تمایز عصبی در سلول‌های با منشأ جنینی و بافت چربی، مؤید یافته‌های فوق در این مطالعه می‌باشند (۱۸-۱۷).

القای تمایز سلول‌های بنیادی عصبی به نورون، اهمیت زیادی دارد؛ چرا که در اکثر اختلالات CNS مشکل اصلی از بین رفتن نورون‌ها است که با جایگزینی آن‌ها می‌توان به درمان یا حداقل به کاهش پیشرفت بیماری امیدوار شد. از طرفی، مطالعه‌ی حاضر نشان داد که سلول‌های بنیادی عصبی موش در حالت معمول و بدون اعمال هیچ عامل بیرونی، بیشتر به آستروسیت تمایز پیدا کردند که مؤید یافته‌های آذری و همکاران می‌باشد (۲۷).

مطالعه بر روی عواملی که درصد تمایز سلول‌های بنیادی عصبی را تغییر می‌دهند، می‌توانند در یافتن راهکاری مناسب جهت تمایز این سلول‌ها یا آماده کردن این سلول‌ها جهت تمایز به یک رده‌ی خاص قبل از پیوند، اهمیت شایانی داشته باشد؛ زیرا تمایز به رده‌های ناخواسته می‌تواند بعد از پیوند، مشکلات عدیده‌ای ایجاد کند.

در زمینه‌ی تمایز سلول‌های بنیادی عصبی به رده‌های سلولی موجود در CNS، گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی عصبی بعد از پیوند، فقط به آستروسیت تمایز می‌یابند (۱۵). برخی دیگر گزارش نموده‌اند که به آستروسیت و الیگودندروسیت تمایز یافته‌اند (۱۴، ۸). در حالی که مطالعات دیگر نشان داده‌اند که به هر سه رده‌ی سلولی موجود در CNS تمایز می‌یابند (۲۹-۲۸).

Macias و همکاران گزارش کرده‌اند که پیوند سلول‌های بنیادی عصبی جنینی موش به ضایعه‌ی نخاعی منجر به ایجاد آلودینیا می‌شود و علت اصلی این عارضه را تمایز زیاد به آستروسیت عنوان کرده‌اند (۱۶). همچنین Davies و همکاران گزارش کردند که همه‌ی آستروسیت‌های منشأ گرفته از پیش‌سازهای جنینی نمی‌توانند ارزش یکسانی در ترمیم ضایعه‌ی نخاعی داشته باشند؛ بلکه بعضی از آن‌ها می‌توانند بعد از پیوند، منجر به ایجاد سندرم‌های درد شوند. بنابراین، پیشنهاد کردند بررسی‌های لازم قبل از پیوند جهت جلوگیری از ایجاد آلودینیا صورت گیرد (۳۰).

همچنین در رابطه با اهمیت القای تمایز به رده‌ی خاصی از سلول‌ها، می‌توان به مطالعه‌ی Eaton و همکاران اشاره کرد که گزارش کردند که سلول‌های عصبی تمایز یافته به نورون‌های گابائرژیک بعد از پیوند در مدل ایجاد درد نوروپاتیک، احساس درد را کاهش دادند (۳۱).

در نهایت، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که سلژیلین به عنوان یک مهار کننده‌ی مونو آمین اکسیداز میزان تمایز به نورون و آستروسیت در سلول‌های بنیادی عصبی را تغییر می‌دهد. بنابراین احتمال می‌رود بتوان از

این دارو جهت بهینه‌سازی پیوند سلول‌های بنیادی عصبی به مدل‌های بیماری‌های نورودژنراتیو استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان، به خاطر حمایت‌های مالی اعلام می‌دارند. این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی مصوب معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان به شماره‌ی ۱۳۸۹/۳۵ می‌باشد.

References

1. Cao QL, Howard RM, Dennison JB, Whittemore SR. Differentiation of engrafted neuronal-restricted precursor cells is inhibited in the traumatically injured spinal cord. Exp Neurol 2002; 177(2): 349-59.
2. Lee IS, Jung K, Kim M, Park KI. Neural stem cells: properties and therapeutic potentials for hypoxic-ischemic brain injury in newborn infants. Pediatr Int 2010; 52(6): 855-65.
3. Tamm C, Duckworth J, Hermanson O, Ceccatelli S. High susceptibility of neural stem cells to methylmercury toxicity: effects on cell survival and neuronal differentiation. J Neurochem 2006; 97(1): 69-78.
4. Okano H. Stem cell biology of the central nervous system. J Neurosci Res 2002; 69(6): 698-707.
5. Okano H. Neural stem cells and strategies for the regeneration of the central nervous system. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 2010; 86(4): 438-50.
6. Gage FH. Mammalian neural stem cells. Science 2000; 287(5457): 1433-8.
7. Tian Y, Liu Y, Chen X, Zhang H, Shi Q, Zhang J, et al. Tetramethylpyrazine promotes proliferation and differentiation of neural stem cells from rat brain in hypoxic condition via mitogen-activated protein kinases pathway in vitro. Neurosci Lett 2010; 474(1): 26-31.
8. Liang P, Jin LH, Liang T, Liu EZ, Zhao SG. Human neural stem cells promote corticospinal axons regeneration and synapse reformation in injured spinal cord of rats. Chin Med J (Engl) 2006; 119(16): 1331-8.
9. Izadpanah E, Fathi F, Hassanzadeh K, Asgari A. Assessment of simultaneous injection of neural stem cells and (-)-deprenyl to improve contusive spinal cord injury in rats. Cell J Yakhteh 2010; 12(3): 411-20.
10. Zhu JM, Zhao YY, Chen SD, Zhang WH, Lou L, Jin X. Functional recovery after transplantation of neural stem cells modified by brain-derived neurotrophic factor in rats with cerebral ischaemia. J Int Med Res 2011; 39(2): 488-98.
11. Zhu Q, Ma J, Yu L, Yuan C. Grafted neural stem cells migrate to substantia nigra and improve behavior in Parkinsonian rats. Neurosci Lett 2009; 462(3): 213-8.
12. Ma H, Yu B, Kong L, Zhang Y, Shi Y. Transplantation of neural stem cells enhances expression of synaptic protein and promotes functional recovery in a rat model of traumatic brain injury. Mol Med Rep 2011; 4(5): 849-56.
13. Franchi S, Valsecchi AE, Borsani E, Procacci P, Ferrari D, Zalfa C, et al. Intravenous neural stem cells abolish nociceptive hypersensitivity and trigger nerve regeneration in experimental neuropathy. Pain 2012; 153(4): 850-61.
14. Vroemen M, Aigner L, Winkler J, Weidner N. Adult neural progenitor cell grafts survive after acute spinal cord injury and integrate along axonal pathways. Eur J Neurosci 2003; 18(4): 743-51.
15. Cao QL, Zhang YP, Howard RM, Walters WM, Tsoulfas P, Whittemore SR. Pluripotent stem cells engrafted into the normal or lesioned adult rat spinal cord are restricted to a glial lineage. Exp Neurol 2001; 167(1): 48-58.
16. Macias MY, Syring MB, Pizzi MA, Crowe MJ, Alexanian AR, Kurpad SN. Pain with no gain: allodynia following neural stem cell transplantation in spinal cord injury. Exp Neurol 2006; 201(2): 335-48.
17. Esmaeili F, Tiraihi T, Movahedin M, Mowla SJ. Selegiline induces neuronal phenotype and neurotrophins expression in embryonic stem cells. Rejuvenation Res 2006; 9(4): 475-84.
18. Abdanipour A, Tiraihi T. Induction of adipose-derived stem cell into motoneuron-like cells using selegiline as preinducer. Brain Res 2012; 1440: 23-33.
19. Magyar K, Palfi M, Tabi T, Kalasz H, Szende B, Szoko E. Pharmacological aspects of (-)-deprenyl. Curr Med Chem 2004; 11(15): 2017-31.
20. Ju WY, Holland DP, Tatton WG. (-)-Deprenyl alters the time course of death of axotomized facial motoneurons and the hypertrophy of neighboring astrocytes in immature rats. Exp

Neurol 1994; 126(2): 233-46.
21. Chiueh CC, Huang SJ, Murphy DL. Suppression of hydroxyl radical formation by MAO inhibitors: a novel possible neuroprotective mechanism in dopaminergic neurotoxicity. J Neural Transm Suppl 1994; 41: 189-96.
22. Xu L, Ma J, Seigel GM, Ma JX. l-Deprenyl, blocking apoptosis and regulating gene expression in cultured retinal neurons. Biochem Pharmacol 1999; 58(7): 1183-90.
23. Johansson CB, Momma S, Clarke DL, Risling M, Lendahl U, Frisen J. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. Cell 1999; 96(1): 25-34.
24. Golbar M, Fathi F, Mowla SJ, Soheili F, Ahmadi A Izadpanah E. Gene expression profiling of NCAM, NCAM-L1, N-cadherin, ninjurin-1 and ninjurin-2 during the course of differentiation of murine neural stem cells. Cell J Yakhteh 2010; 11(4): 390-9.
25. Fathi F, Jafari Kermani A, Golbar MR, Izadpanah E, Golmoahammadi MGh, Moula SJ, et al. Isolation, induction of neural and glial differentiation and evaluating the expression of five self renewal genes in adult mouse neural stem cells. J Iran Anat Sci 2007; 5(19): 81-92.
26. Bose R, Moors M, Tofighi R, Cascante A, Hermanson O, Ceccatelli S. Glucocorticoids induce long-lasting effects in neural stem cells resulting in senescence-related alterations. Cell Death Dis 2010; 1: e92.
27. Azari H, Golmohammadi MGh, Esfandiari E, Mardani M, Reynolds BA. . Comparison of neural stem cells neurogenesis by using flow cytometry versus manual counting method. J Isfahan Med Sch 2007; 25(86): 9-18. [In Persian].
28. Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, Miyao S, Watanabe M, Nakamura M, et al. Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. J Neurosci Res 2002; 69(6): 925-33.
29. Cummings BJ, Uchida N, Tamaki SJ, Salazar DL, Hooshmand M, Summers R, et al. Human neural stem cells differentiate and promote locomotor recovery in spinal cord-injured mice. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102(39): 14069-74.
30. Davies JE, Proschel C, Zhang N, Noble M, Mayer-Proschel M, Davies SJ. Transplanted astrocytes derived from BMP- or CNTF-treated glial-restricted precursors have opposite effects on recovery and allodynia after spinal cord injury. J Biol 2008; 7(7): 24.
31. Eaton MJ, Plunkett JA, Martinez MA, Lopez T, Karmally S, Cejas P, et al. Transplants of neuronal cells bioengineered to synthesize GABA alleviate chronic neuropathic pain. Cell Transplant 1999; 8(1): 87-101.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 11.01.2014
Vol. 32, No. 276, 1st Week, May 2014
Accepted: 04.03.2014

Selegiline Increases the Mouse Neural Stem Cell Differentiation into Neurons

Kambiz Hassanzadeh PhD[1], Rohallah Moloudi PhD[2], Mehrnoosh Nikzaban MSc[3], Hamoon Moghbel[4], Esmael Izadpanah PhD[1]

Original Article

Abstract

Background: The effect of various agents on neural stem cells differentiation, because of their ability to use in neurodegenerative diseases, has been widely considered. In this study, the effect of selegiline on mouse neural stem cells differentiation was evaluated.

Methods: Neural stem cells were isolated from the subventricular zone of the brain of male C57 mice (2-3 months of age). To assay the effect of selegiline on neural stem cells differentiation into neurons, astrocytes and oligodendrocytes, immunocytochemical techniques were utilized. Neural stem cells were exposed to different concentrations of selegiline (nano to micro Molar) for 7 days. Subsequently, samples were exposed to specific antibodies against neurons (β tubulin), astrocytes (Glial fibrillary acidic protein or GFAP) and oligodendrocytes (Oligodendrocyte-specific protein or OSP). The differentiated cells were counted and reported as percent of total cells.

Findings: Selegiline increased the β tubulin positive cells (0.001 to 0.1 μM) and decreased the GFAP positive cells (1 μM) compared to vehicle treated neural stem cells.

Conclusion: We found that selegiline increased the differentiation of neural stem cells into neurons. Therefore, selegiline may be a reasonable choice to use in preparation of neural stem cells for transplantation.

Keywords: Neural stem cells, Selegiline, Differentiation

Citation: Hassanzadeh K, Moloudi R, Nikzaban M, Moghbel H, Izadpanah E. **Selegiline Increases the Mouse Neural Stem Cell Differentiation into Neurons.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(276): 212-9

1- Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
2- Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
3- Cellular and Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
4- Student of Medicine, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
Corresponding Author: Esmael Izadpanah PhD, Email: eizadpanah2000@yahoo.com