

مقاله پژوهشی

تأثیر سلول‌های بنیادی آندومتریال به همراه داروی پومالیدوماید بر میزان گلوکوتایون و لیپید سرمی در پارکینسون القاء شده توسط ۶-هیدروکسی‌دوپامین در رت نر نژاد ویستار

الهام قاسمی دلیگانی^۱، مریم خسروی^{۱*}، محمود سلامی زواره^۲، رامین حاجی‌خانی^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات فیزیولوژی-دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران

*مسئول مکاتبات: Maryam-khosravi@iau-tnb.ac.ir

DOI: 10.22034/ascij.2022.1939521.1303

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳

چکیده

بیماری پارکینسون، دومین بیماری شایع نورودژنراتیو مرتبط با سن می‌باشد که تاکنون، روش درمانی موثری برای این بیماری شناخته نشده است. هدف از این تحقیق بررسی اثرات سلول‌های بنیادی آندومتریال به همراه داروی ضدالتهاب پومالیدوماید بر میزان گلوکوتایون (GSH) و لیپیدهای سرمی (کلسترول تام TC و لیپوپروتئین با دانسیته پایین: LDL) در مدل پارکینسونی رت نر نژاد ویستار می‌باشد. ۴۰ سر رت نر به صورت تصادفی به ۵ گروه (۸ حیوان در هر گروه) شامل: کنترل، پارکینسونی و ۳ گروه تجربی پارکینسونی دریافت‌کننده سلول‌های بنیادی، پومالیدوماید و ترکیب سلول‌های بنیادی و پومالیدوماید تقسیم شدند. القای پارکینسون با تزریق ۶-هیدروکسی‌دوپامین (غلظت ۶ میکروگرم) در جسم مخطط به روش استریوتاکسی انجام شد. در هفته چهارم پس از جراحی، گروه‌های تجربی سه‌گانه، به ترتیب با ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه داروی پومالیدوماید، یکبار تزریق ۱۰۰۰۰۰ سلول بنیادی آندومتریال و ترکیب پومالیدوماید با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه و تزریق سلول بنیادی آندومتریال به تعداد ۱۰۰۰۰۰ سلول طی مدت ۲۸ روز تیمار شدند در پایان روز ۲۸، از گروه‌ها نمونه‌خونی تهیه و فاکتورها سنجش شدند. نتایج نشان داد که افزایش معناداری در گلوکوتایون میان گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه پارکینسونی وجود دارد. همچنین کاهش معناداری در گلوکوتایون گروه پارکینسونی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. مقایسه میان گروه پارکینسونی و گروه تیمار شده با ترکیب پومالیدوماید و سلول‌های آندومتری بنیادی، کاهش معناداری را در میزان کلسترول نشان داد. سنجش میزان LDL نیز، کاهش معنادار میزان LDL در گروه‌های تیمار شده را در مقایسه با گروه پارکینسونی نشان داد. با توجه به بهبود نسبی فاکتورهای مورد سنجش در موش‌های پارکینسونی می‌توان از سلول‌های بنیادی آلوژنیک به عنوان منبعی بالقوه در تحقیقات آینده برای درمان بیماری پارکینسون همراه با داروی پومالیدوماید استفاده نمود.

کلمات کلیدی: پارکینسون، ۶-هیدروکسی‌دوپامین، سلول‌های بنیادی آندومتریوم، پومالیدوماید، گلوکوتایون، لیپوپروتئین با دانسیته پایین.

مقدمه

بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع نورودژنراتیو بعد از بیماری آلزایمر می‌باشد. علائم کلینیکی بارز آن شامل لرزش در حالت استراحت، سختی، برادی کینزیا / آکینزیا، اختلال در راه رفتن و عدم ثبات در

دوپامینرژیک را از مغز جنین به افراد مبتلا به پارکینسون پیوند زد (۲۱). همچنین نتایج در فاز اولیه مطالعه انجام شده توسط هریس و همکارانش (۲۰۱۸) در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس نشان داد که تزریق مکرر پیش‌سازهای عصبی حاصل از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ایمن بوده و به خوبی تحمل گردیده است (۱۳).

در پی آن پیوند ESCsها، iPSCها و سلول‌های بنیادی دیگر، منجر به دستیابی به موفقیت در جایگزینی دوپامین شد. با این حال، ملاحظات اخلاقی، مشکلات در یافتن و تامین مداوم برخی از سلول‌های بنیادی مانند ESCs و خطر ابتلا به تومورزایی بعد از پیوند با ESCs یا iPSCs، مانع از کاربرد کلینیکی آنها می‌شود. MSCs ها یک راهکار امیدوارکننده در روش سلول‌درمانی برای بیماری‌های نورولوژیکی به‌شمار می‌آید (۲۴).

تحقیقات پیشین در مورد کاربرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی، توانایی آنها را در بهبود رشد عصبی درون‌زا، القای ایجاد سیناپس، کاهش سطح رادیکال‌های آزاد در محیط، کاهش آپوپتوز، و تنظیم التهاب نشان داده است. در پارکینسون تخریب انتخابی سلول‌های عصبی دوپامینرژیک منجر به استفاده از استراتژی‌های جایگزینی سلول‌های جدید به عنوان منبع ذخیره دوپامین در جسم مخطط گردید. سلول‌های بنیادی مشتق شده از آندومتر انسانی منبع سلول جدیدی برای اختلالات عصبی هستند، که با فراوانی بالا و به دلیل ویژگی‌های تمایزی وسیع آنها و مراحل جمع‌آوری ساده، ایمن و غیرتهاجمی، در مقایسه با سایر سلول‌ها منبعی مناسب از سلول‌های بنیادی محسوب می‌شوند. زمینه‌های تحقیقاتی اخیر در استفاده از فناوری سلول‌درمانی برای درمان پارکینسون، به‌کارگیری سلول‌های بنیادی مشتق شده از آندومتر انسانی (HEDSCs) بوده است (۲، ۷).

وضعیت و صورت ماسکی می‌باشد (۲۹). مهمترین عامل پاتوفیزیولوژیک بیماری پارکینسون، مرگ نورون‌های دوپامینرژیک در بخش متراکم هسته جسم سیاه و کاهش متعاقب دوپامین در استریاتوم می‌باشد. در اکثر موارد، بیماری پارکینسون هنگامی از نظر کلینیکی ظاهر می‌شود که حدود ۶۹ درصد نورون‌های دوپامینرژیک هسته جسم سیاه تخریب شوند (۹، ۱۰). این بیماری بیشتر در افراد بالای ۵۰ سال رخ می‌دهد و با افزایش سن، شیوع و علائم آن بیشتر می‌شود. در برخی موارد، علائم در زیر ۵۰ سال و یا حتی زیر ۲۰ سال دیده می‌شود که به آن پارکینسون جوانان گفته می‌شود و اکثر موارد به دلایل ژنتیکی رخ می‌دهد. البته جنبه ژنتیک، نسبت به بیماری‌های خاص دیگری که ژنتیک در آنها تاثیرگذاری بیشتری دارد، نقش کم‌رنگ‌تری را ایفا می‌کند و به‌همین دلیل غربالگری کمتری از لحاظ ارتباط ژنتیک و ابتلا به این بیماری انجام می‌شود (۱۵).

در حال حاضر، هیچ روش درمانی قطعی برای پارکینسون یافت نشده است، به طوری که اخیراً حرکت به سمت سلول‌درمانی به عنوان یک روش درمانی انجام شده است (۱۸، ۱۹). در پارکینسون تخریب انتخابی سلول‌های عصبی دوپامینرژیک منجر به استفاده از استراتژی‌های جایگزینی سلول‌های جدید به عنوان منبع ذخیره دوپامین در جسم مخطط گردیده است. در سال‌های اخیر، گسترش استفاده از سلول‌های بنیادی، توسعه درمان پزشکی را برای اختلالات عصبی از جمله پارکینسون، آلزایمر و مولتی اسکلروزیس فراهم کرده است. در حال حاضر، سلول‌های بنیادی جنینی (ESC)، سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده (iPSC)، سلول‌های بنیادی عصبی (NSCs) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) به عنوان یک روش درمانی مناسب برای درمان پارکینسون استفاده شده است (۸، ۲۰). پارمار (۲۰۱۸) پیش‌سازهای نورون‌های

و اختلالات مرتبط استفاده شود (۲۷). با توجه به اینکه فرآورده‌های شیمیایی موجود در بازار، جهت بهبود یا پیشگیری از پارکینسون پیشرفته، موثر نبوده و با توجه به اثرات ضدالتهابی داروی پومالیدوماید (Pomalidomide)، بررسی تاثیر سلول‌های بنیادی آندومتريال به همراه داروی پومالیدوماید بر میزان گلوکوتیون و لیپید سرمی در پارکینسون القاء‌شده توسط ۶- هیدروکسی دوپامین در مدل آزمایشگاهی رت نر نژاد انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام تحقیق رت‌های نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی 20 ± 180 گرم از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان خریداری و به مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان منتقل گردید. موش‌ها در قفس‌های مخصوص (فیبرگلاس) به ابعاد $35 \times 30 \times 15$ سانتی‌متر در شرایط استاندارد تحت دمای 22 ± 2 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۴۰-۵۵ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری گردید. آزمایشات عملی بعد از گذشت یک هفته و سازگار شدن حیوانات با محیط و شرایط جدید آغاز شد.

گروه‌بندی: در این تحقیق ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار در ۵ گروه ۸ تایی رت نر نژاد ویستار قرار گرفت. حیوانات در ۵ گروه جداگانه به صورت تصادفی تقسیم‌بندی شدند: گروه اول شامل حیواناتی که در شرایط معمولی آزمایشگاه نگهداری می‌شوند و مداخلات استریوتکسی (جراحی) در آنها صورت گرفت و سپس روزانه ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سالیین دریافت کردند (گروه کنترل). گروه دوم شامل حیوانات پارکینسونی است که به مدت ۲۸ روز، روزانه ۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سالیین دریافت کردند. گروه سوم شامل حیوانات پارکینسونی است که تعداد

پومالیدوماید (Pomalidomide) با نام تجاری پومالسیت یکی از مشتقات تالیدومید است. این دارو قادر به عبور از سد خونی مغزی بوده، ضد رگ‌سازی و تعدیل‌کننده پاسخ ایمنی است و در سال ۲۰۱۳ با تایید سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای مبتلایان به مالتیپل میلوما که بیماری آن‌ها پس از درمان با سایر داروهای ضد سرطان پیشرفت کرده مورد استفاده قرار گرفت. مکانیسم اثر پومالیدوماید نیز شبیه به سایر تعدیل‌کننده‌های سیستم ایمنی بوده و مهارکننده عملکرد عامل نکروز تومور آلفا است. پومالیدوماید، با مهار این مکانیزم موجب کاهش اینترلوکین ۶، اینترلوکین β ، عامل نکروز تومور آلفا ($TNF\alpha$) و پاسخ‌های التهابی می‌گردد که مشخصاً در درمان بیماری‌های التهابی موثر می‌باشد (۲۸). مطالعات نشان می‌دهد که داروی پومالیدوماید می‌تواند نقش موثری در کاهش صدمات و آسیب‌های مغزی شدید و بقای نرونی داشته باشد (۱).

والرا و همکارانش (۲۰۱۵) در تحقیقات خود نشان دادند که لنالیدومید (Lenalidomide) باعث کاهش نقص رفتاری و از بین رفتن نرون‌های دوپامینرژیک در جسم مخطط می‌شود. این اقدام محافظتی با کاهش میکروگلیوز در جسم مخطط و هیپوکامپ همراه است و موجب کاهش بیان مرکزی سیتوکین‌های التهابی در حیوانات تراریخته تحت درمان با لنالیدومید، همراه با کاهش فعالیت NF- κ B می‌شود. لنالیدوماید یکی از مشتقات تالیدوماید (Thalidomide) است که برای کاهش سمیت و افزایش سیستم ایمنی بدن طراحی شده است. اثرات محافظتی لنالیدومید در یک مدل حیوانی اسکروز جانبی آمیوتروفیک نشان داده شده است، و مکانیسم عملکرد آن شامل تعدیل تولید سایتوکاین و مهار سیگنالینگ NF- κ B است. این نتایج نشان می‌دهد که لنالیدومید یا ترکیبات مشابه ممکن است بتواند برای تعدیل التهابات عصبی در پارکینسون

تمیز گردد. با یافتن مختصات، استخوان محل تزریق توسط سوزن مخصوص با سرعت پایین به منظور جلوگیری از آسیب بافت مغز سوراخ گردید. آن‌گاه با نمایان شدن سطح سخت شامه، تزریق به وسیله سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری صورت گرفت. برای این کار نوک سرنگ SGC به عمق ۳- میلی‌متری از سخت شامه فرستاده شد. سپس ۶ میکروگرم شش-هیدروکسی‌دوپامین (سیگما) در ۴ میکرولیتر محلول نمکی ۰/۹ درصد حاوی اسید آسکوربیک ۰/۲ درصد (جهت جلوگیری از اکسید شدن OHDA-۶) به صورت یک‌طرفه (نیمه‌ی راست مغز) به جسم مخطط مغز تزریق شد. تزریقات با سرعت ۰/۵ میکرولیتر در دقیقه و به مدت ۸ دقیقه انجام شد. ۵ دقیقه اضافه‌تر بعد از پایان هر تزریق برای انتشار محلول بداخل بافت سرنگ به آرامی بیرون کشیده شد (۶).

بررسی رفتاری پس از تزریق داروی آپومورفین:
در هفته چهارم پس از تزریق شش هیدروکسی‌دوپامین، تزریق آپومورفین به صورت داخل صفاقی به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن صورت گرفت و حیوانات به مدت یک ساعت درون محفظه-ی شفاف به اندازه ۲۸ × ۲۸ × ۵۰ قرار گرفتند. سپس در طول یک ساعت در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه‌ای تعداد چرخش‌های ۳۶۰ درجه موش به سمت مقابل ناحیه تخریب‌شده شمارش شد. تعداد چرخش‌ها به سمت مخالف محل ضایعه به عنوان عدد مثبت و چرخش به سمت محل ضایعه به عنوان عدد منفی در نظر گرفته شد. تعداد چرخش خالص، با تفاضل چرخش‌ها در دو جهت محاسبه شد. در این تحقیق از موش‌های مدل پارکینسونی که نتیجه رفتار چرخشی یک‌طرفه آن‌ها با آپومورفین با دوز ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش از ۷ بار در دقیقه ثبت شد استفاده گردید.

۱۰۰۰۰۰ سلول بنیادی آندومتریال را بصورت تزریق دریافت کردند. گروه چهارم شامل حیوانات پارکینسونی است که به مدت ۲۸ روز، روزانه ۴ میلی-گرم بر کیلوگرم فرآورده پومالیدوماید بصورت گاوژ دریافت کردند. گروه پنجم شامل حیوانات پارکینسونی است که به مدت ۲۸ روز، روزانه ۴ میلی-گرم بر کیلوگرم فرآورده پومالیدوماید به صورت گاوژ و تعداد ۱۰۰۰۰۰ سلول بنیادی آندومتریال را به صورت تزریق دریافت کردند.

جهت ایجاد مدل پارکینسونی ترکیب هیدروکسی‌دوپامین با غلظت ۶ میکروگرم در جسم مخطط با حجم ۴ میکرولیتر تزریق گردید.

ایجاد مدل پارکینسونی: مدل پارکینسونی با تزریق یک‌طرفه شش هیدروکسی‌دوپامین (OHDA-۶) درون جسم مخطط (استریاتوم) انجام شد. ابتدا موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. سر موش‌ها به کمک میله‌های دستگاه استریوتاکس ثابت شد. مختصات دستگاه برای ایجاد ضایعه در استریاتوم، ۰/۵ میلی‌متر قدامی نسبت به برگما، ۲ میلی‌متر لترال به سمت راست نسبت به برگما و ۳ میلی‌متر از سطح سخت شامه تنظیم شد. همچنین میله دندان‌ی ۱ میلی‌متر زیر سطح افق قرار گرفت. برای انجام جراحی و یافتن مختصات از اطلس پاکسینوس و واتسون استفاده گردید (۲۲). قبل از ثابت کردن سر حیوان در دستگاه موهای سر حیوان کاملاً تراشیده شد تا پوست سر در معرض دید کامل قرار گیرد. سپس حیوان در دستگاه ثابت و بعد از ضدعفونی کردن محل جراحی با الکل ۷۰ درصد، به وسیله تیغ جراحی شکافی با اندازه حداکثر ۲/۵ سانتی‌متر موازی با صفحه ساژیتال از محل فاصله بین چشم‌ها تا ناحیه فاصله بین گوش‌ها ایجاد گردید، اسکالپ به آرامی به عقب رانده شد تا سطح استخوان

لیتر FBS ۱۰٪ با PH: ۷/۴ یا PBS به آن اضافه شد تا به صورت سوسپانسیون درآید. در مرحله‌ی بعدی، محلول سلول‌های بنیادی جدا شده به وسیله‌ی تریپسین و سرم با دور ۱۵۰۰ RPM به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. آن‌گاه پلیت سلولی به وسیله‌ی محیط کشت DMEM حاوی FBS ۱۰٪ (۵ میلی‌لیتر) از طریق پیپتاژ کردن، به صورت سوسپانسیون درآمد. پس از آن به وسیله‌ی لام نئوبار شمارش سلولی انجام داده که برای این کار با ۱ میلی‌لیتر محیط کشت کامل، پلیت سلولی را حل نموده و سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از آن را جهت شمارش سلولی برداشته و با ۱۰ میکرولیتر رنگ تیرپان بلو ۰/۲۵٪ مخلوط کرده، سپس تعداد سلول‌های شمارش شده به وسیله‌ی لام نئوبار را در عدد ۲ و سپس در عدد 10^4 ضرب و تعداد سلول‌ها در ۱ میلی‌لیتر محلول بدست آمد. آن‌گاه محلول سلولی را سانتریفیوژ نموده و محلول رویی را دور ریخته و پلیت سلولی را که قبلاً تعداد سلول‌های موجود در آن شمارش شده بود، با مقدار مشخصی از محیط کشت کامل حل شد. در نهایت محلول حاوی محیط کشت DMEM و FBS ۱۰٪ و سلول‌های بنیادی را درون ظروف کشت مورد نظر (سه عدد ظرف کشت ۲۵ سانتی‌متر مربع) ریخته و به آن محیط کشت DMEM حاوی FBS ۱۰٪ اضافه کرده تا سطح سلول‌های موجود در ظرف را کامل پوشانند. پس از آن ظروف حاوی محیط کشت و سلول‌های بنیادی را درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه و کربن دی‌اکسید ۵٪ و رطوبت ۹۵٪ نگهداری شد. شایان ذکر است برای تهیه‌ی یک لیتر محلول PBS، مقادیر ۸ گرم NaCl، ۲ گرم KCl، ۴۲/۱ گرم Na_2HPO_4 و ۰/۲۴ گرم KH_2PO_4 را به طور کامل در ۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده pH آن را توسط HCl به اندازه‌ی ۷/۴ تنظیم کرده و حجم نهایی آن را به یک لیتر رسانده، جهت فیلتر کردن ناخالصی‌ها آن

مراحل ذوب کردن سلول‌های بنیادی فریز شده: سلول‌های بنیادی آندومترال انسانی از دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شد. کرایویال محتوی سلول‌های بنیادی را از ازت مایع خارج کرده و با حرکت دورانی در دمای ۳۷ درجه یا ذوب کردن توسط کف دست محتویات نیمه ذوب شد. سپس مرحله‌ی اضافه کردن محیط کشت + FBS + آنتی بیوتیک انجام و داخل لوله فالکون cc15 ریخته شد. در این مرحله پیپتینگ انجام داده و سپس سانتریفیوژ (RPM / 10) ۱۵۰۰min انجام گردید. سوپرناتانت رویی دور ریخته و ۱ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM حاوی سرم جنین گاوی (FBS) و آنتی‌بیوتیک به آن اضافه شد. پس از آن شمارش سلولی انجام گردید و سلول‌ها در ظروف کشت قرار داده شد و محیط کشت کامل (DMEM + FBS + antibiotic) به آن اضافه شد و سپس ظروف کشت در انکوباتور قرار گرفت.

مراحل کشت و پاساژ دادن سلول‌های بنیادی مزانشیمی آندومتر انسانی: ابتدا محیط کشت روی سلول‌های بنیادی به وسیله‌ی پیپت پاستور شیشه‌ای خارج و سپس سلول‌های موجود در کف فلاسک کشت به وسیله‌ی ۳ میلی‌لیتر PBS 1x شستشو داده شد. جهت جدا نمودن سلول‌های دوکی شکل چسبیده به کف ظرف کشت مذکور، تریپسین حاوی ۲ میلی‌لیتر EDTA به ظرف کشت اضافه و ظرف کشت مذکور به مدت سه الی پنج دقیقه داخل انکوباتور CO_2 تیمار گردید. پس از آن سلول‌های جدا شده حاوی تریپسین به سرعت وارد مقدار برابری از FBS شد تا آنزیم تریپسین، غیرفعال شده و به سلول‌های بنیادی آسیب وارد ننماید. در مرحله‌ی بعدی، محلول سلول‌های بنیادی جدا شده به وسیله‌ی تریپسین و سرم با دور ۱۵۰۰ RPM به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. طی مرحله‌ی بعدی محلول رویی را دور ریخته و محیط کشت DMEM حاوی ۵ میلی-

نیتروتیوبنزوات (TNB) می‌کند که رنگ آن زرد می‌باشد و در طول موج ۴۱۲ نانومتر قابل کمی‌سازی است. شدت رنگ نسبت مستقیم با تیول‌های احیایی در نمونه دارد.

سنجش میزان کلسترول (TC) سرم: جهت سنجش کلسترول از کیت شرکت پارس آزمون استفاده شد. در این آزمایش پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول، به همراه فنول و ۴-آمینوآنتی‌پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که به صورت فتومتریک قابل اندازه‌گیری است با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد. شدت رنگ حاصل در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد.

سنجش میزان لیپوپروتئین دانسیته پایین (LDL) سرم: سنجش LDL سرم نیز توسط کیت شرکت پارس آزمون انجام شد. در این روش، نمونه مستقیماً و در ۲ مرحله در مجاورت معرف‌ها قرار می‌گیرد. در مرحله اول LDL پوشش داده می‌شود تا وارد عمل نگردد. در مرحله دوم پوشش LDL برداشته شده و واکنش آنزیمی ادامه پیدا کرده و تولید آب اکسیژنه می‌شود که آن را با سیستم تریندر به کمپلکس رنگی تبدیل و جذب آن در ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود بطوری‌که شدت رنگ حاصل متناسب با غلظت LDL در نمونه می‌باشد. تمامی داده‌های آزمون به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Mean \pm SEM) گزارش گردید.

آنالیز آماری: در مورد نتایج حاصل از سنجش پارامترهای ذکر شده، از آنالیز آماری one way analysis of variance, with Tukey post hoc test استفاده شد. آنالیز آماری در برنامه SPSS ۲۶ انجام گردید و جهت رسم نمودارها از برنامه Excel ۲۰۱۰ Microsoft استفاده شد. لازم به ذکر است در مورد

را از کاغذ صافی رد کرده و سپس محلول به وسیله-ی اتوکلاو، تحت شرایط ۲۰ دقیقه و ۱۲۱ درجه سانتیگراد استریل گردید.

تزریق و انتقال سلول‌های بنیادی به داخل بینی: عمل انتقال داخل بینی ماده حامل و سلول‌های بنیادی توسط سرنگ هامیلتون در حالت بیهوشی (کتامین ۱۰۰/۱ زایلازین ۱۰ به صورت تزریق درون صفاقی) انجام شد. ابتدا ۵ میکرولیتر هیالورونیداز (Hyaluronidase, Sigma Aldrich) به داخل هر کدام از سوراخ‌های بینی تزریق شد تا میزان مهاجرت سلول‌ها بدخل مغز افزایش یابد. ۳۰ دقیقه بعد از تزریق هیالورونیداز، ۲۰ میکرولیتر بافر فسفات‌سالین (PBS) (مقدار ۱۰ میکرولیتر برای هر سوراخ بینی) به همراه ۱۰۰۰۰۰ سلول بدخل سوراخ‌های بینی در ۴ مرحله (به فاصله یک دقیقه) و هر بار ۵ میکرولیتر به طور متناوب انتقال یافت (۵، ۲۳).

خونگیری جهت سنجش فاکتورهای گلوکوتایون، کلسترول تام و LDL: در پایان روز بیست و هشتم و پس از تیمار، حیوانات که ۱۲ ساعت به حالت ناشتا نگهداری شده بودند با تزریق درون صفاقی داروی کتامین-زایلازین کاملاً بیهوش شدند و با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری از بطن قلب آنها مقدار ۴-۵/۵ میلی لیتر خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خونی به مدت ۳۰ دقیقه جهت لخته شدن در دمای معمولی آزمایشگاه نگهداری شدند. سپس به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند (با ۱۴۰۰ دور در دقیقه) و با استفاده از سمپلر سرم آنها جداسازی و در میکروتیوب در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد جهت سنجش فاکتورهای TC, LDL, GSH نگهداری شدند.

سنجش گلوکوتایون (GSH): سنجش میزان گلوکوتایون با استفاده از کیت شرکت Zellbio انجام شد. تیول موجود در گلوکوتایون با معرف ال‌مان یعنی دی‌تیوبیس نیتروبنزواتیک اسید (DNTB) واکنش می‌دهد و تولید

کلید یافته‌های این تحقیق اختلاف در سطح $p < 0/05$ به عنوان سطح معنادار در نظر گرفته شده است.

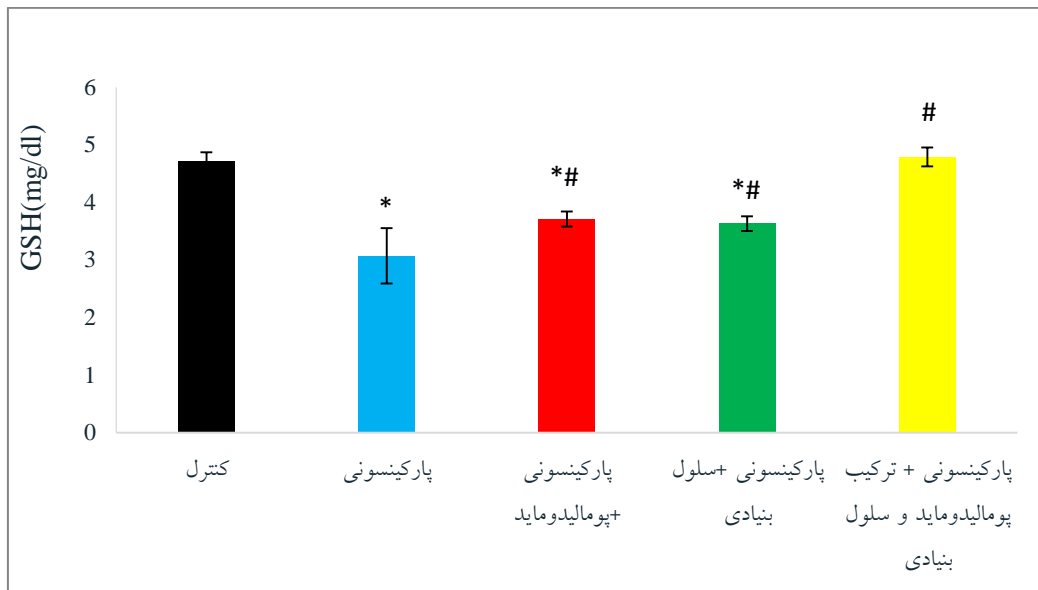
نتایج

تغییرات در فاکتور GSH: با توجه به اختلاف معنادار در نتایج فاکتور گلوتاتیون در گروه‌های مورد آزمون، تست تعقیبی توکی انجام شد. نتایج نشان داد که میزان فاکتور GSH در گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافته است ($p < 0/05$). بررسی نتایج در خصوص میزان GSH در دو گروه تیمار شده به تفکیک با پومالیدوماید و سلول بنیادی نشان داد که میزان این فاکتور دارای کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد و در مقایسه با گروه پارکینسونی نیز دارای افزایش معنادار می‌باشد ($p < 0/05$). همچنین مقایسه نتایج میان گروه تیمار شده با ترکیب سلول‌های بنیادی و پومالیدوماید با گروه کنترل اختلاف معناداری را نشان نداد ($p > 0/05$). نمودار (۱).

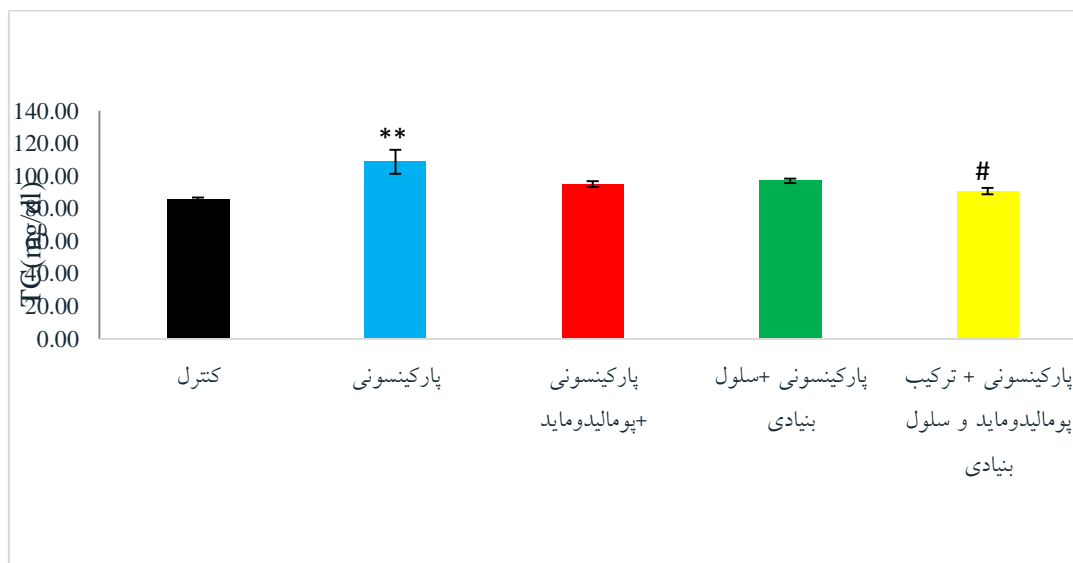
تغییرات در کلسترول سرم: با توجه به اختلاف معنادار در نتایج کلسترول در گروه‌های مورد آزمون ($p < 0/05$) و انجام پس‌آزمون، بررسی‌ها نشان داد میزان کلسترول در گروه پارکینسونی افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه کنترل داشته و این افزایش،

معنادار می‌باشد ($p < 0/01$). همچنین مقایسه میان گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل اختلاف معناداری را در این فاکتور نشان نداد ($p > 0/05$). مقایسه میان گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه پارکینسونی نشان داد که میزان کلسترول در گروه تیمار شده با ترکیب پومالیدوماید و سلول‌های بنیادی دارای کاهش معنادار می‌باشد ($p < 0/05$), اما در دو گروه تیمار شده به تفکیک با پومالیدوماید و سلول بنیادی این کاهش معنادار نبود ($p > 0/05$). نمودار (۲).

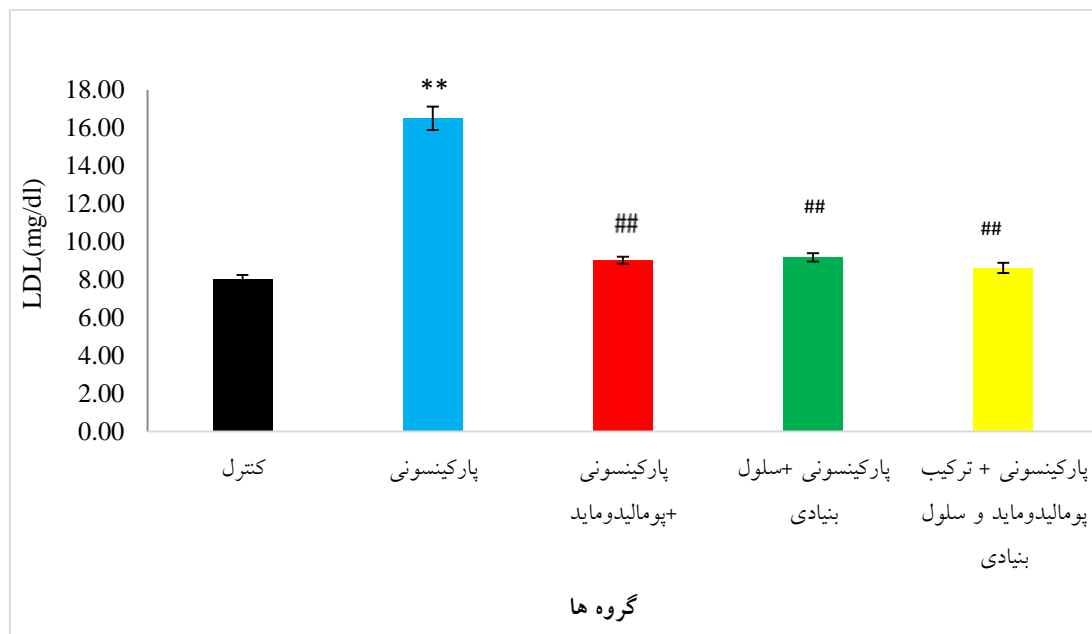
تغییرات در میزان LDL: با توجه به اختلاف معنادار در نتایج میزان LDL در گروه‌های مورد آزمون ($p < 0/01$) و انجام پس‌آزمون برای مشخص شدن وجود اختلاف میان تیمارهای مورد استفاده، میزان LDL در گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد ($p < 0/01$). همچنین مقایسه میان میزان این فاکتور در گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد ($p > 0/05$). مقایسه نتایج میان گروه پارکینسونی و گروه‌های تیمار شده نیز نشان داد که میزان این فاکتور در گروه‌های تیمار شده مذکور کاهش یافته و این کاهش نسبت به گروه پارکینسونی معنادار می‌باشد ($p < 0/01$). نمودار (۳).



نمودار ۱- تاثیر تیمار سلول‌های بنیادی آندومتريال و پومالیدومايد بر ميزان گلو تاتیون سرم (GSH) در مدل موش پارکینسونی. داده‌ها به صورت $Mean \pm S.E.M$ گزارش شده‌است. * در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0/05$) و # در مقایسه با گروه پارکینسونی ($p < 0/05$).



نمودار ۲- تاثیر تیمار سلول‌های بنیادی آندومتريال و پومالیدومايد بر ميزان کلسترول تام سرم در مدل موش پارکینسونی. ** در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0/01$) و # در مقایسه با گروه پارکینسونی ($p < 0/05$).



نمودار ۳- تاثیر تیمار سلول‌های بنیادی آندومتريال و پومالیدوماید بر میزان LDL سرم در مدل موش پارکینسونی. ** در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0.01$) و ### در مقایسه با گروه پارکینسونی ($p < 0.01$).

جدول ۱- تاثیر سلول‌های بنیادی آندومتريال و پومالیدوماید بر فاکتورهای LDL، TC و GSH

گروه‌ها پارامترها	کنترل	پارکینسونی	پومالیدوماید	سلول بنیادی آندومتريال	ترکیب سلول‌های بنیادی آندومتريال و پومالیدوماید
GSH	4.71 ± 0.61	3.07 ± 0.48*	3.71 ± 0.13**	3.63 ± 0.13**	4.79 ± 0.16#
TC	85.56 ± 1.37	108.79 ± 7.4**	95.02 ± 1.78	97.05 ± 1.36	90.78 ± 2.04#
LDL	8.00 ± 0.24	16.51 ± 0.61**	9.03 ± 0.18###	9.17 ± 0.22###	8.62 ± 0.26###

داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M گزارش شده‌است. نماد ستاره* در مقایسه با گروه کنترل ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) و # در مقایسه با گروه پارکینسونی ($p < 0.05$), ### ($p < 0.01$).

بحث

این گروه حاصل شده‌است. تری‌پتید گلوتاتیون (GSH) یکی از مواردی است که به دلیل نقش کلیدی و بحرانی در فیزیولوژی و بیوشیمیایی سلول، بسیار مورد مطالعه قرار گرفته‌است. گلوتاتیون برای بقای وضعیت ردوکس تیول سلول، حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو، سمیت‌زدایی درونی، ذخیره و انتقال سیستمین برای سنتز DNA و پروتئین، تنظیم چرخه-سلولی و تمایز سلولی مورد نیاز است. تغییرات در هموستازی گلوتاتیون در پیشرفت تعدادی از بیماری‌های انسان، دخیل می‌باشد. مطالعات اخیر حاکی از

در این پژوهش مقادیر فاکتور گلوتاتیون، کلسترول، LDL سرم خون مورد سنجش قرار گرفت. مقادیر گلوتاتیون در گروه‌های آزمون نشان داد میزان آن در گروه پارکینسونی کاهش قابل ملاحظه‌ای یافته‌است و اختلاف معناداری را با گروه کنترل و گروه‌های تحت تیمار نشان می‌دهد. همچنین با توجه به مقایسه نتایج میان گروه کنترل و گروه تیمار شده با ترکیب پومالیدوماید و سلول‌های آندومتريال بنیادی، مشخص گردید، افزایش میزان گلوتاتیون در این گروه با گروه کنترل اختلاف معناداری نداشته و بیشترین تاثیر در

دهند (۴). کاهش مشاهده شده در این تحقیق نیز با نتایج بدست آمده در مطالعات انجام شده مطابقت داشته و با توجه به ایجاد استرس اکسیداتیو در اثر بیماری و پیامدهای ناشی از آن، کاهش گلوکوتایون در گروه مدل پارکینسونی مشاهده می‌شود که در نتیجه تیمار با داروی پومالیدوماید و سلول‌های بنیادی میزان گلوکوتایون در موش‌های پارکینسونی افزایش یافته است. همچنین نتایج نشان داد که افزایش میزان کلسترول در گروه پارکینسونی نسبت به گروه کنترل معنادار می‌باشد، اگرچه این افزایش در مقایسه با میزان کلسترول دو گروه تیمار شده با پومالیدوماید و سلول‌های آندومتريال معنادار نبود، اما نسبت به گروه تیمار شده با ترکیب پومالیدوماید و سلول‌های بنیادی دارای اختلاف معنادار بود.

در پژوهشی که توسط تراپ و همکارانش (۲۰۱۴) با هدف شناسایی بیومارکرهای تشخیصی برای تشخیص بیماری پارکینسون در مراحل شروع بیماری انجام شد، بررسی میزان متابولیت‌های پلازما و مایع مغزی نخاعی در بیماران پارکینسونی، کاهش میزان اسید های چرب اشباع و غیر اشباع C16-C18 را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مغایرت دارد (۲۶).

البته مطالعات انجام شده توسط گریگوریو و همکارانش (۲۰۱۳) بر روی میزان کلسترول و LDL بیماران پارکینسونی، افزایش مقادیر آن‌ها را نسبت به گروه کنترل نشان داد که با نتایج این تحقیق مطابقت می‌نماید (۱۱). با توجه به عدم اختلاف در میزان کلسترول در گروه‌های به تفکیک تیمار شده با داروی پومالیدوماید و سلول‌های بنیادی به نظر می‌رسد تاثیری بر میزان کلسترول نداشته و احتمالاً ترکیب سلول‌های بنیادی و پومالیدوماید به دلیل افزایش میزان گلوکوتایون و تاثیر آن بر متابولیسم لیپیدها موجب کاهش میزان کلسترول در این گروه شده است.

نقش‌های جدید دیگری از این تری‌پپتید در تنظیم بیان ژن، آپوپتوز و انتقال غشایی مولکول‌های داخلی و خارجی می‌باشد. (۱۲).

با توجه به اینکه نوروتوکسین ۶- هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) پس از ورود به نورون‌های کاتکولامینرژیک، اکسید شده و در نتیجه متابولیسم آن رادیکال‌های سمی در سلول تولید خواهد شد، رادیکال‌های آزاد اکسیژن با اکسید نیتریک واکنش می‌دهد و ONOO را تشکیل می‌دهند که موجب کاهش سطح گلوکوتایون و منجر به فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ NF-kB می‌شوند (۱۷).

بسیاری مطالعات، نقش گلوکوتایون را در جلوگیری از افزایش مرگ سلولی نشان می‌دهد. کاهش گلوکوتایون موجب فعالیت محرک‌های پیش‌آپوپتوز شده، و سلول‌ها را مستعد به آپوپتوز می‌نماید. در هر صورت تخلیه یا کاهش گلوکوتایون ممکن است فرایند آپوپتوز را در غیاب محرک‌های دیگر فعال نماید و یا حتی منجر به نکروز در سلول‌ها شوند. کاهش سطح گلوکوتایون در ارتباط با نقص عملکردی میتوکندری، فعال شدن آپوپتوز از طریق مسیرهای میتوکندری و تولید متابولیت‌های اسفنگومیلین به عنوان محرک آپوپتوز می‌باشد. در مقابل، ذخایر گلوکوتایون اغلب از آپوپتوز جلوگیری می‌کند و بسیاری از رده‌های سلولی که مقاوم به آپوپتوز هستند در دودمان سلولی خود سطح گلوکوتایون را بالا برده‌اند. مطالعات متعددی نشان داده‌است که پومالیدوماید می‌تواند در استرس اکسیداتیو ناشی از H2O2 در محیط‌های کشت نوری قشر اولیه موش صحرایی از طریق ایجاد اثرات آنتی-اکسیداتیو و ضدآپوپتوز، مرگ سلول‌های عصبی را کاهش دهد (۲۸). همچنین طبق مطالعات انجام شده، سلول‌های بنیادی با مهاجرت به جسم مخطط می‌توانند تبدیل به نورون‌های دوپامینرژیک شده و پیامدهای ناشی از مرگ سلول‌های عصبی را کاهش

اندیکن و همکارانش طی تحقیقاتی که بر روی بیماران پارکینسونی انجام دادند افزایش معناداری در میزان پروتئین واکنشی C و میزان LDL پلاسما مشاهده کردند که در همه‌ی مراحل بیماری، افزایش میزان LDL مشهود بود که این نتایج با اطلاعات بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (۳).

در حال حاضر پاتوژنز بیماری پارکینسون ناشناخته- است. امروزه پیوند سلولی، یک استراتژی بالقوه برای درمان بیماری پارکینسون و انواع بسیاری از بیماری‌ها است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل سهولت در دسترسی، منبع سلول‌درمانی خوبی هستند و می‌توانند بدون ایجاد مشکلات اخلاقی و فنی جدی مورد استفاده قرار گیرند. آنها دارای اثرات تغذیه‌ای برای محافظت از بافت‌های آسیب‌دیده و همچنین توانایی تمایز و تولید طیف گسترده‌ای از سلول‌ها را از جمله نورون‌های دوپامین دارند که در بهسازی مجدد سلول‌های از دست‌رفته در بیماری پارکینسون نقش دارند (۱۶).

نتیجه‌گیری

تا کنون داروهای متعددی در درمان بیماری مزمن، پیشرونده و تخریب‌کننده عصبی پارکینسون تجویز شده‌است. با این وجود تحقیقات بیشتر روی مدل‌های حیوانی و بررسی جنبه‌های مختلف اثرگذاری و عوارض حاصل از آن اجتناب‌ناپذیر است. این مطالعه نشان داد بررسی‌های بیشتری در خصوص میزان بیومارکرهای متابولیک در بیماران پارکینسونی در فازهای مختلف بیماری باید انجام گیرد و سلول‌های بنیادی آندومتر و داروی پومالیدوماید می‌توانند به عنوان راهبردهای درمانی جدیدی در آینده برای درمان پارکینسون مد نظر قرار گیرند.

همچنین احتمال می‌رود این اختلاف نتایج به دلیل تغییرات متابولیت‌ها در فازهای مختلف بیماری پارکینسون باشد. مطالعات اخیر پیشنهاد می‌کند که میزان بالای کلسترول سرم ممکن است در کاهش پیشرفت و شیوع بیماری پارکینسون نقش داشته‌باشد. این سؤال مطرح است که آیا میزان پایین کلسترول موجب پیشرفت بیماری پارکینسون خواهد شد که نیازمند انجام بررسی‌های بیشتر در آینده می‌باشد. کلسترول در بسیاری از عملکردهای اصلی بیولوژیکی از ترمیم سلولی یا بازسازی تا پیش‌ساز نورواستروئیدها نقش دارد، در حالی که کلسترول می‌تواند بر اتیولوژی بیماری پارکینسون یا پیشرفت کلینیکی آن تاثیر گذار باشد، می‌توان میزان پایین کلسترول را به عنوان مارکری برای پیشرفت بیماری در نظر گرفت. بنابراین درک ماهیت و مکانیسم‌های درگیر ارتباط میان کاهش کلسترول و افزایش خطر ابتلا به پارکینسون یا پیشرفت آن تاثیر عمیقی در درک جنبه‌های کلیدی بیماری پارکینسون خواهدداشت. نقش‌های مفید احتمالی افزایش کلسترول در اختلالات دیگر تخریب عصبی نیز بیان شده است. به عنوان نمونه هیپرلیپیدمی به عنوان فاکتور مهم بقای بیماران مبتلا به اسکلروزیس جانبی آمفی‌تروفیک پیشنهاد شده‌است که با توجه به نظرات در خصوص منافع کاهش کلسترول در بیماری‌های قلبی عروقی پیامدهای بحث‌برانگیزی خواهد داشت (۱۴).

در این مطالعه افزایش میزان LDL در گروه پارکینسونی مشاهده شد و تیمار با سلول‌های بنیادی و داروی پومالیدوماید موجب کاهش معنادار این فاکتور گردید. با توجه به مطالعات انجام شده در خصوص اثرات گلوکوتایون بر کاهش لیپیدهای سرمی، و افزایش این فاکتور در گروه‌های تیمار شده احتمال تاثیر آن بر کاهش لیپیدها وجود دارد (۲۵).

7. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F. 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4): 315-7.

8. Duke C.M., Taylor H.S. 2013. Stem cells and the reproductive system: Historical perspective and future directions. *Maturitas*, 76(3): 284-289.

9. Dunnett S.B., Björklund A., Lindvall O. 2001. Cell therapy in Parkinson's disease—stop or go?. *Nature Reviews Neurology*, 2(5): 365-369.

10. Fearnley J.M., Lees A.J. 1991. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain*, 114(5): 2283-2301.

11. Gregório M.L., Pinhel M.A., Sado C.L., Longo G.S., Oliveira F.N. 2013. Impact of genetic variants of apolipoprotein E on lipid profile in patients with Parkinson's disease. *BioMedical Research International*, 641515.

12. Hammond C.L., Lee T.K., Ballatori N.J. 2001. Novel roles for glutathione in gene expression, cell death, and membrane transport of organic solutes. *Journal of Hepatology*, 34(6): 946-54.

13. Harris V.K., Stark J., Vyshkina T., Blackshear L., Joo G. 2018. Phase I trial of intrathecal mesenchymal stem cell-derived neural progenitors in progressive multiple sclerosis. *EBioMedicine*, 29: 23-30.

14. Huang X., Auinger P., Eberly S., Oakes D., Schwarzschild M. 2011. Serum cholesterol and the progression of Parkinson's disease: results from DATATOP. *PLoS One*, 6(8): e22854.

15. Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M., 2000. *Principles of neural science*. 4th ed. McGraw-hill New York.

16. Kitada M., Dezawa M. 2012. Parkinson's disease and mesenchymal stem

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر بخشی از پایان‌نامه دکترای فیزیولوژی جانوری بوده که با کد IR.IAU.TNB.REC.1398.010 در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال به تصویب رسیده است. بدین وسیله از تمامی عزیزانی که در این تحقیق همکاری صمیمانه داشته‌اند سپاسگزاری و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Adibhatla R.M., Hatcher J.F. 2007. Role of lipids in brain injury and diseases. *Future lipidology*, 2(4): 403-422.

2. Ai J., Shahverdi A.R., Barough S.E., Kouchesfehane H.M., Heidari S. 2012. Derivation of adipocytes from human endometrial stem cells (EnSCs). *Journal of Reproduction and Infertility*, 13(3): 151.

3. Andican G., Konukoglu D., Bozulolcay M., Bayülkem K., Firtina S., Burcak G. 2012. Plasma oxidative and inflammatory markers in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Acta Neurologica Belg.*, 112(2): 155-159.

4. Bagheri-Mohammadi S., Alani B., Karimian M., Moradian-Tehrani R., Noureddini M. 2019. Intranasal administration of endometrial mesenchymal stem cells as a suitable approach for Parkinson's disease therapy. *Molecular Biology and Reproduction*, 46(4): 4293-4302.

5. Bagheri-Mohammadi S., Karimian M., Alani B., Verdi J., Tehrani R.M. 2019. Stem cell-based therapy for Parkinson's disease with a focus on human endometrium-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Cell Physiology*, 234(2): 1326-1335.

6. da Conceição F.S., Ngo-Abdalla S., Houzel J.C., Rehen S.K. 2010. Murine model for Parkinson's disease: from 6-OH dopamine lesion to behavioral test. *Journal of Visualized Experiments*, 35: e1376.

24. Su P., Loane C., Politis M. 2011. The Use of Stem Cells in the Treatment of Parkinsons Disease. *Insciences Journal*, 1(3): 136-156.
25. Sugiyama K., Ohishi K., Muramatsu K., Chemistry B. 1987. Effects of dietary glutathione on plasma and liver lipid levels in rats fed on a high cholesterol diet *Agricultural Biological Chemistry*, 51(6): 1601-1606.
26. Trupp M., Jonsson P., Öhrfelt A., Zetterberg H., Obudulu O. 2014. Metabolite and peptide levels in plasma and CSF differentiating healthy controls from patients with newly diagnosed Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 4(3): 549-560.
27. Valera E., Mante M., Anderson S., Rockenstein E., Masliah E. 2015. Lenalidomide reduces microglial activation and behavioral deficits in a transgenic model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 12(1): 93.
28. Wang J.Y., Huang Y.N., Chiu C.C., Tweedie D., Luo W. 2016. Pomalidomide mitigates neuronal loss, neuroinflammation, and behavioral impairments induced by traumatic brain injury in rat. *Journal of Neuroinflammation*, 13(1): 1-17.
29. Xia R., Mao Z.H. 2012. Progression of motor symptoms in Parkinson's disease. *Neuroscience Bulletin*, 28(1): 39-48.
- cells: potential for cell-based therapy. *Parkinson's Disease*, 2012: 873706.
17. Kundu S., Ghosh P., Datta S., Ghosh A., Chattopadhyay S., Chatterjee M. 2012. Oxidative stress as a potential biomarker for determining disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Free Radical Research*, 46(12): 1482-1489.
18. Lindvall O., Kokaia Z. 2009. Prospects of stem cell therapy for replacing dopamine neurons in Parkinson's disease. *Trends of Pharmacological Sciences*, 30(5): 260-267.
19. Lindvall O., Kokaia Z. 2006. Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature*, 441(7097): 1094-1096.
20. Maria S., Helle B., Tristan L., Gaynor S., Arnar A., et al. 2013. Improved cell therapy protocol for Parkinson's disease based on differentiation efficiency and safety of hESC-, hiPSC and non-human primate iPSC-derived DA neurons. *Stem Cells*, 31(8): 1548.
21. Parmar M. 2018. Towards stem cell based therapies for Parkinson's disease. *Development*, 145(1): 156117.
22. Paxinos G., Watson C. 2006. *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*. Elsevier.
23. Salama M., Sobh M., Emam M., Abdalla A., Sabry D. 2017. Effect of intranasal stem cell administration on the nigrostriatal system in a mouse model of Parkinson's disease. *Experimantal Therapy Medicine*, 13(3): 976-982.

The Effect of Endometrial Stem Cells with Pomalidomide on Serum Glutathione and Lipids in 6-OHDA Induced Rat Model of Parkinson

Elham Ghasemi Deligani, Maryam Khosravi*, Mahmoud Salami Zavareh, Ramin Haji Khani

1- Department of Biology, Islamic Azad University, North-Tehran Branch, Tehran, Iran
2- Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Abstract

Parkinson's disease is the second most common age-related neurodegenerative disease with no identified effective treatment. The aim of this study was to evaluate the effects of human endometrial stem cells with the anti-inflammatory drug pomalidomide on glutathione (GSH) and serum lipids (total cholesterol, TC and low density lipoprotein, LDL) in the Parkinson's model in male Wistar rats. Male rats were randomly assigned to five groups (8 animals in each group) including: control, Parkinson's, and 3 experimental Parkinson's groups receiving stem cells, pomalidomide, and a combination of stem cells and pomalidomide. Parkinson's was induced by injection of 6-hydroxy dopamine (concentration 6 µg) in the striatum by stereotaxic method. In the fourth week after surgery, the three experimental groups were treated with 4 mg/kg/daily of pomalidomide, 100,000 stem cells through intranasal route, and a combination of pomalidomide at a dose of 4 mg/kg/daily and 100,000 stem cells. At the end of day 28, blood samples were taken from the groups and factors were measured. The results revealed a significant increase in glutathione among the treated groups compared to the Parkinson's group. There was also a significant decrease in glutathione in Parkinson's group compared to the control group. Comparison between Parkinson's group and the group treated with pomalidomide and endometrial stem cells showed a significant reduction in cholesterol. Moreover, LDL levels showed a significant decrease in LDL levels in the treated groups compared to the Parkinson's group. Considering the improvement of the measured factors in Parkinson's rat, allogeneic stem cells can be used as a potential source along with pomalidomide in future research for the treatment of Parkinson's disease.

Keywords: Parkinson, 6-hydroxydopamine, Endometrial Stem Cells, Pomalidomide, Glutathione, Low Density Lipoprotein