

کارایی فلووکسامین در جلوگیری از روند پیری سلول‌های بنیادی عصبی موش در مدل القاء شده با دی‌گالاکتوز در محیط کشت

مهرزاد جعفری برمک^۱، ساناز باقری^۲، سعید جاودان سیرت^۱، امیر قنبری^{۳*}

^۱ مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران،

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۶

چکیده

زمینه و هدف: پیری سلول یک فرآیند غیرقابل بازگشت در سلول‌ها است که تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند استرس اکسیداتیو و التهاب قرار می‌گیرد و اهمیت این موضوع در تأثیر آن بر سلول‌های بنیادی عصبی بیشتر می‌شود. فلووکسامین در غلظت‌های مناسب تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی عصبی را به گلیال‌ها و نورون‌ها فراهم کرده و فاکتورهای التهابی را تعدیل می‌کند. بنابراین این مطالعه با هدف تعیین کارایی فلووکسامین در جلوگیری از روند پیری سلول‌های بنیادی عصبی موش در مدل القاء شده با دی‌گالاکتوز در محیط کشت طراحی شد.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۴۰۲ انجام شد. سلول‌های بنیادی عصبی را از ناحیه ساب و نتریکولار مغز موش نر بالغ جداسازی کرده و به روش استاندارد کشت داده تا نوروسفرها ایجاد شدند. زنده مانی سلولی، تعداد نوروسفر و سلول‌ها در گروه‌های کنترل، گروه تیمار دی - گالاکتوز (۲۰ میلی گرم در سی سی) و گروه‌های تیمار با فلووکسامین با غلظت‌های مختلف و گروه‌های توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین به روش MTT انجام شد. همچنین تعداد نوروسفر، تعداد سلول‌های تکثیر شونده و سلول‌های پیر شمارش شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: زنده مانی سلول‌های بنیادی عصبی در گروه فلووکسامین در غلظت پایین در مقایسه با گروه کنترل افزایش و با افزایش دوز کاهش معنی‌دار آماری داشته است ($p < 0/001$) و در گروه دی - گالاکتوز کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($p < 0/01$) تیمار توأم فلووکسامین با دوز پایین در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار ($p < 0/001$) و در گروه‌های با دوز بالا کاهش معنی‌دار آماری نشان داد. تعداد نوروسفرها در گروه دی - گالاکتوز در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار آماری ($p < 0/001$) و در گروه توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین دوز ۵۰ نانومولار در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0/01$). میانگین تعداد سلول‌های BrdU مثبت در گروه فلووکسامین ۱۰۰ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار آماری ($p < 0/001$) و در گروه دی - گالاکتوز در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0/01$). تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین در دوزهای پایین موجب افزایش تعداد سلول‌های BrdU مثبت در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز گردید. میانگین تعداد سلول‌های بنیادی عصبی در گروه‌های دی - گالاکتوز نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار و تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین در دوزهای ۵۰ در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز افزایش آماری نشان دادند ($p < 0/001$). میانگین تعداد سلول‌های پیر با افزایش دوز فلووکسامین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار و تیمار با دی - گالاکتوز تعداد سلول‌های پیر را افزایش داد. تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین در غلظت‌های کم در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز کاهش معنی‌دار آماری در تعداد سلول‌های پیر نشان داد ($p < 0/0001$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد فلووکسامین که معمولاً برای درمان افسردگی و اختلالات وسواس استفاده می‌شود، زنده ماندن و بقای سلولی را در دوزهای پایین افزایش می‌دهد، اما در دوزهای بالا بسیار سمی است و می‌تواند عوامل مرتبط با پیری و پیری را در سلول‌های بنیادی عصبی القا کند. پژوهش‌های بیشتری برای درک این اثرات در موجودات آزمایشگاهی و زنده مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: فلووکسامین، پیری، دی‌گالاکتوز، سلول‌های بنیادی عصبی

* نویسنده مسئول: امیر قنبری، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی

Email: amirghanbari52@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

سیستم عصبی انسان فوق‌العاده پیچیده است و متشکل از میلیاردها سلول عصبی (نورون) است که به وسیله سلول‌های گلیال پشتیبانی می‌شوند. این نورون‌ها ارتباطات گسترده‌ای با یکدیگر ایجاد می‌کنند و یک سیستم پردازش اطلاعات و تولید پاسخ قدرتمند ایجاد می‌کنند (۱ و ۲). چهار نوع سلول نوروگلیال وجود دارد - آستروسیت‌ها، الیگودندروسیت‌ها، میکروگلیاها و سلول‌های اپاندیمی - که از ساختارهای عصبی در برابر محیط اطراف حمایت می‌کنند (۱ و ۲).

در جوامع در حال توسعه، تغییرات سبک زندگی منجر به ارتباط واضحی بین بیماری‌های مغزی و عصبی شده است. بیماری‌هایی مانند؛ آلزایمر، پارکینسون، زوال عقل، اسکیزوفرنی و سکته مغزی در حال افزایش هستند و افراد بیشتری را به دنبال مواد محافظ برای سیستم عصبی می‌کنند. این مواد نه تنها ساختار و عملکرد سیستم عصبی را بهبود می‌بخشند و بازسازی می‌کنند، بلکه به تکثیر و تمایز سلول‌های عصبی کمک می‌کنند و از مغز در برابر آسیب‌های پاتولوژیک محافظت می‌کنند (۳).

یکی از راهکارهای بازسازی عصبی، جایگزینی سلول‌هایی است که در اثر بیماری یا آسیب از بین رفته‌اند. محققان از ابزارهای مختلفی از جمله پیوند بافت جنینی، سلول‌های بنیادی از ساختارهای مختلف و سلول اصلاح شده یا مهندسی شده ژنتیکی برای جایگزینی عناصر سلولی در مغز استفاده کرده‌اند (۴).

سلول‌های بنیادی عصبی (NSCs) سلول‌های

چند توانی هستند که عمدتاً در بافت‌های عصبی یافت می‌شوند. NSC ها به نورون‌ها، آستروسیت‌ها و الیگودندروسیت‌ها تمایز می‌یابند و برای عملکرد مغز بسیار مهم هستند (۵). آنها به طور مداوم نورون‌های جدیدی تولید می‌کنند و فاکتورهای نوروتروفیک (NTFs) ترشح می‌کنند که باعث بقای نورون‌های آسیب‌دیده و تولید الیگودندروسیت‌های جدید می‌شود (۶). مناطقی از مغز بالغ که در آن نورون‌ها تکثیر می‌شوند شامل؛ آمیگدال، مخچه، قشر مخ، ناحیه زیر بطنی (SVZ)، ناحیه بطنی (VZ) و ناحیه زیر دانه‌ای (SGZ) شکج دنداندار است. نواحی زیر بطنی و بطنی نسبت به سایر نواحی فعال‌تر هستند و سرعت تکثیر آنها در طول ترمیم ضایعات افزایش می‌یابد (۵ و ۶).

بررسی‌ها بر اهمیت سلول‌های بنیادی عصبی بزرگسالان (NSCs) برای سلامت مغز تأکید می‌کنند، کاهش تکثیر، افزایش توقف چرخه سلولی که به تدریج منجر به از دست دادن ظرفیت ترمیم و بازسازی می‌شود، از علل پیری عصبی و اختلالات آن ذکر می‌کنند. علاوه بر این، پژوهش‌ها مکانیسم‌های مختلفی را ذکر می‌کنند که به پیری سلول‌های بنیادی و تأثیر آنها بر سلامت و طول عمر کلی ارگانیسم کمک می‌کنند. رابطه بیماری‌های مغزی و عصبی در جوامع در حال توسعه و سالخوردگی جوامع نیز به عنوان عاملی که نیازمند تغییر رویکرد نظام سلامت کشور است، برجسته می‌شود (۷-۹).

پیری سلول‌های بنیادی شامل فرآیندهای سلولی مانند آسیب DNA، تجمع متابولیت‌های سمی، توقف تولید مثل، هموستاز پروتئین، از دست دادن عملکرد میتوکندری، افزایش اکسیژن رادیکالی، سیگنال‌های خارج سلولی و تغییرات اپی‌ژنتیکی است که بر فعالیت سلولی تأثیر می‌گذارد. این فرآیندها ممکن است با طول عمر و سلامت موجودات مرتبط باشد (۱۵-۱۰).

بدن انسان برای مقابله با تغییرات سلولی دارای سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با مکانیسم‌های مختلف شیمیایی عمل می‌کنند (۱۷ و ۱۶). دی‌گالاکتوز یک قند مونوساکارید است که به وسیله آنزیم گالاکتوز اکسیداز به آلدوز، پراکسید هیدروژن و گالاکتیتول تبدیل می‌شود که منجر به استرس اسمزی و تولید اکسیژن رادیکالی می‌گردد که منجر به پیری سلول و در نهایت آپوپتوز سلولی می‌گردد (۱۵). داروهای ضدافسردگی مانند فلووکسامین به طور عمده برای کنترل اختلالات روانی، استرس و افسردگی تجویز می‌شود، ولی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که این دارو با اثر بر روی بیان ژن‌های مرتبط با آنتی‌اکسیدان‌های بدن سبب تغییراتی در تنظیم و تعادل آنها دارد (۲۱-۱۹ و ۱۶). داروی فلووکسامین، به طور قابل توجهی زنده‌مانی سلولی و تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی (NSCs) را از طریق افزایش بیان mRNA Notch1، Hes1 و Ki-67 افزایش می‌دهد و همچنین، غلظت‌های فیزیولوژیکی فلووکسامین تمایز سلول‌های

بنیادی عصبی را به الیگودندروسیت‌ها، آستروسیت‌ها و نورون‌ها را فراهم می‌نماید (۱۷).

بنابر مطالب یاد شده و از آنجایی که مستندات از اثرات مفید و یا سوء فلووکسامین بر روند پیری سلول‌های بنیادی و پیش‌ساز در دسترس نیست و با توجه به خاصیت ضدالتهابی و توانایی تکثیر این دارو و این که این دارو در سبب داروهای ضد افسردگی قرار دارد و نظر به اهمیت سلول‌های بنیادی عصبی در بازسازی بافت مغز، هدف از این مطالعه تعیین و کارایی فلووکسامین در جلوگیری از روند پیری سلول‌های بنیادی عصبی موش در مدل القاء شده با دی‌گالاکتوز در محیط کشت بود.^۱

روش بررسی

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، که در سال ۱۴۰۲ انجام شد، از چهار راس موش بالغ نژاد بальب سی استفاده شد. ابتدا موش‌ها با مخلوط ۳-۴ درصد گاز ایزوفلورن و اکسیژن بیهوش شدند و بعد از ایجاد جا به جایی در مهره‌های گردنی تشریح شدند. سپس جمجمه شکافته و مغز موش‌ها از جمجمه خارج و با محلول استریل و سرد اسمزی (HEM)^(۱) شستشو شدند تا آلودگی‌هایی مانند خـون و مو برداشته شود. سپس در زیر استریومیکروسکوپ، ناحیه برجستگی گانگلیونی

1-HEPES Buffer

جانبی را تشریح نمودیم و آن را به قطعات کوچک بریده و بر اساس پروتکل کشت سلول‌های بنیادی عصبی در محیط کشت مناسب حاوی گلوتامکس، پنی سیلین - استرپتومایسین و محیط کشت اصلاح شده (DMEM)^(۱) حاوی فاکتور رشد اپیدرمال (EGF)^(۲)، فاکتور رشد فیبروبلاستی (bFGF)^(۳) و هپارین ۰/۰۲ درصد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO₂ ۵ درصد به مدت ۷ روز انکوبه شدند. طی این مدت زمان سلول‌های نروسفر شکل می‌گیرند. سپس این نورسفرهای اولیه شکل گرفته را جمع‌آوری و برای گسترش بیشتر آنها و تهیه تعداد مناسب از سلول‌ها به روش معمول پاساژ داده شدند (۱۸). نورسفرهای شکل گرفته در محیط کشت جمع‌آوری نموده و پس از سانتریفیوژ و دور ریختن محلول رویی، ۱ میلی‌لیتر تریپسین به سلول‌ها اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد، سپس به آن مهارکننده تریپسین اضافه گردید. پس از پپیتاژ، سلول‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی سلول‌ها تخلیه و محیط کشت جدید اضافه گردید و دوباره سوسپانسیون سلولی تهیه و بسته به تعداد سلول‌ها بین چند ظرف محیط کشت تقسیم شدند و داخل هر کدام، ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت تازه اضافه گردید. سلول‌ها در انکوباتور به مدت ۵ روز قرار گرفتند و برای به دست آوردن مقدار مناسبی از سلول‌ها جهت گروه‌بندی تحقیق این مراحل ادامه یافت (۱۹). در این مطالعه برای القای پیری سلول‌های

بنیادی عصبی، سلول‌ها با میزان ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دی - گالاکتوز به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند (۲۰). حدود ده هزار سلول به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای منقل و به مدت ۲۴ ساعت به صورت تصادفی ساده به گروه دی - گالاکتوز (کنترل) و گروه‌های دی - گالاکتوز همراه با تیمار فلووکسامین با دوزهای (۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰) میکرومولار تقسیم‌بندی و تیمار شدند. پس از ۴۸ ساعت مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) MTT به هر چاهک اضافه شد و به مدت ۳ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. در این مدت ذرات نامحلول بنفش رنگ فورمازان به دلیل واکنش شیمیایی آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری ایجاد می‌شود. سپس ۱۰۰ میکرولیتر DMSO خالص جایگزین محیط انکوبه شده با MTT می‌گردد و به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار گرفتند.^۲

محلول بنفش رنگ به دست آمده نشان دهنده توان زیستی سلول‌های تیمار می‌باشد، جذب نوری پلیت‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر خوانش شدند. اثر هر غلظت دارو به صورت سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد بقا سلول‌هایی که تحت تأثیر غلظتی از دارو قرار داشتند طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{Cell viability (\%)} = \left[\frac{(\text{OD}_{\text{Test}} - \text{OD}_{\text{Control}})}{\text{OD}_{\text{Control}}} \right] \times 100$$

1-Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)

2-Epidermal growth factor

3-Basic fibroblast growth factor

در ادامه برای شمارش سلول‌های نوروسفر تعداد پنجاه هزار سلول در پلیت ۱۲ خانه‌ای به مدت ۶ روز در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس نورسفرهای هر خانه جمع‌آوری و برای مجزا کردن توده سلول‌های نوروسفر از تریپسین استفاده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی با ۹۰ میکرولیتر محلول رنگی تریپان بلو مخلوط شده و بلافاصله با کمک یک لام نتوبار تعداد سلول‌های رنگ گرفته (سلول‌های مرده) و سلول‌های رنگ نشده (سلول‌های زنده) شمارش شدند و درصد سلول‌ها محاسبه گردید (۲۱).

پنجاه هزار سلول در یک پلیت ۲۴ خانه‌ای کشت حاوی برموداوکسی یوریدین با ۱۰ میکرومول در لیتر برای سه روز در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO₂ انکوبه شدند. پس از آن، سلول‌ها با پارافرمالدئید ۴ درصد به مدت ۱۰ دقیقه تثبیت و با ۰/۱ مولار بافر فسفات شسته شدند. برای تخریب هسته، سلول‌ها با اسید کلریدریک ۲ نرمال به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق پیش تیمار شدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در بافر هلمز بورات^(۱) انکوبه گردیدند. سپس با ۰/۱ مولار محلول بافر فسفات شسته شده و سپس با ۱۰ درصد سرم طبیعی بز به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق و سپس یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با آنتی‌بادی اولیه (به عنوان آنتی برموداوکسی یوریدین^(۲) و ۱/۲۵۰ رقیق شده) موش انکوبه شدند، بعد کشت‌های سلولی با ۰/۱ مولار محلول بافر فسفات شسته و با آنتی‌بادی ثانویه فلورسنت ضد موش (۱/۵۰۰ رقیق شده) و رنگ هسته DAPI (۱/۳۰۰ رقیق شده) به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه

شدند و سپس در زیر میکروسکوپ فلورسانس بررسی گردیدند (۲۲).^(۳)

برای شناسایی سلول‌های پیر بر اساس افزایش فعالیت بتا-گالاکتوزیداز از روش ایمینو سیتوشیمی استفاده شد. تعداد ده هزار سلول بنیادی عصبی در پلیت‌های ۱۲ خانه‌ای طبق گروه‌بندی‌های گفته شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس محیط رویی سلول‌ها برداشته شد و به هر چاهک سلولی با ۵۰۰ میلی‌لیتر پارافرمالدئید ۴ درصد برای فیکس سلول اضافه شد. بعد از ۲۰ دقیقه هر چاهک سه مرتبه و هر بار ۵ الی ۱۰ دقیقه با محلول بافر فسفات شستشو داده شدند. سپس مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول توبین ۲۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه به سلول‌ها اضافه گردید، سپس سلول‌ها سه مرتبه با محلول بافر فسفات شستشو داده شدند. در ادامه مقدار ۲۰۰ میکرولیتر سرم جنینی گاوی ۱۰ درصد همراه با ۲۰۰ میکرولیتر تریتون به مدت ۲۰ دقیقه روی سلول‌ها اضافه شد. بدون شستشو دادن سلول‌ها، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر آنتی‌بادی اولیه ۱/۳۰۰ رقیق شده (بتا - گالاکتوزیداز) به هر چاهک سلولی اضافه و سپس در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفتند. روز بعد هر چاهک تخلیه و طبق شرایط قبل با بافر فسفات شستشو داده شد تا آنتی‌بادی اضافی خارج شود. بعداً مقدار ۲۰۰ میکرولیتر آنتی‌بادی ثانویه ۱/۳۰۰ رقیق شده (Goat anti mouse Alexa 568) و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر محلول رنگ هسته فلورسنتی (DAPI)^(۳) ۱/۳۰۰ رقیق

1-Holmes borate buffer

2-Bromodeoxyuridine

3-1-4',6-diamidino-2-phenylindole

شده به هر چاهک اضافه گردید و در محیط تاریک اتاق آزمایشگاه به مدت ۴۵ دقیقه نگهداری و بعد از سپری شدن مدت یاد شده چاهک‌ها تخلیه و با بافر فسفات طبق شرایط قبل شستشو داده شدند و با میکروسکوب فلوروسنت عکس برداری انجام گردید و سلول‌های مثبت تصاویر به دست آمده با استفاده از نرم افزار میکروسکوپی شمارش شدند (۲۳).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad Prism و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیب توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

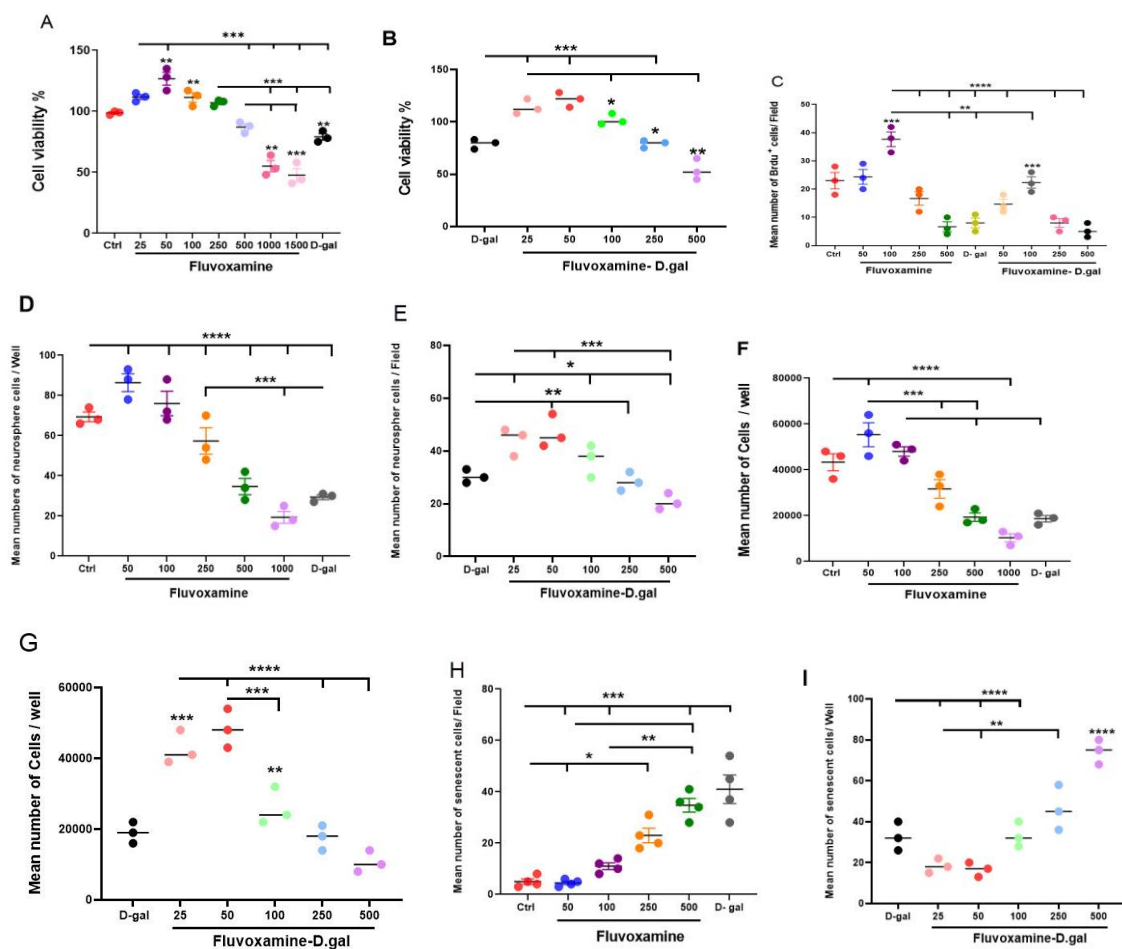
زنده مانی سلول‌های بنیادی عصبی در گروه تیمار فلووکسامین در غلظت ۵۰ نانومولار در مقایسه با گروه‌های کنترل و دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.01$). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت فلووکسامین زنده مانی سلول‌های بنیادی عصبی در قیاس بین گروهی کاهش یافته است ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) (شکل A). همچنین زنده مانی سلول‌های بنیادی عصبی در گروه تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین در غلظت ۲۵ و ۵۰ نانومولار در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.01$). همچنین در مقایسه بین گروهی با افزایش غلظت در گروه‌های توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین کاهش معنی‌دار آماری مشاهده شد ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) (شکل B). تعداد سلول‌های برموداوکسی یوریدین مثبت در گروه تیمار با فلووکسامین در غلظت ۱۰۰ نانومولار در

مقایسه با گروه کنترل و دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.001$). همچنین در مقایسه بین گروهی با افزایش غلظت در گروه‌های تیمار فلووکسامین به تنهایی و نیز گروه‌های تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین کاهش معنی‌دار آماری در تعداد سلول‌های BrdU مثبت مشاهد

میانگین تعداد سلول‌های نوروسفر در گروه تیمار فلووکسامین در غلظت ۵۰ نانومولار در مقایسه با گروه‌های کنترل و دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.001$). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت فلووکسامین تعداد سلول‌های نوروسفر در قیاس بین گروهی کاهش یافته است ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) (شکل D). میانگین تعداد سلول‌های عصبی در گروه تیمار فلووکسامین در غلظت ۵۰ نانومولار در مقایسه با گروه‌های کنترل و دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.01$) (شکل E). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت فلووکسامین میانگین تعداد سلول‌های عصبی در قیاس بین گروهی کاهش یافته است ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) (شکل F). میانگین تعداد سلول‌های عصبی در گروه‌های تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین در غلظت ۲۵ و ۵۰ نانومولار در مقایسه با گروه دی - گالاکتوز افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.001$) (شکل G). همچنین نتایج نشان داد میانگین تعداد سلول‌های عصبی در قیاس بین گروهی در گروه‌های تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین با افزایش غلظت کاهش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) (شکل G).

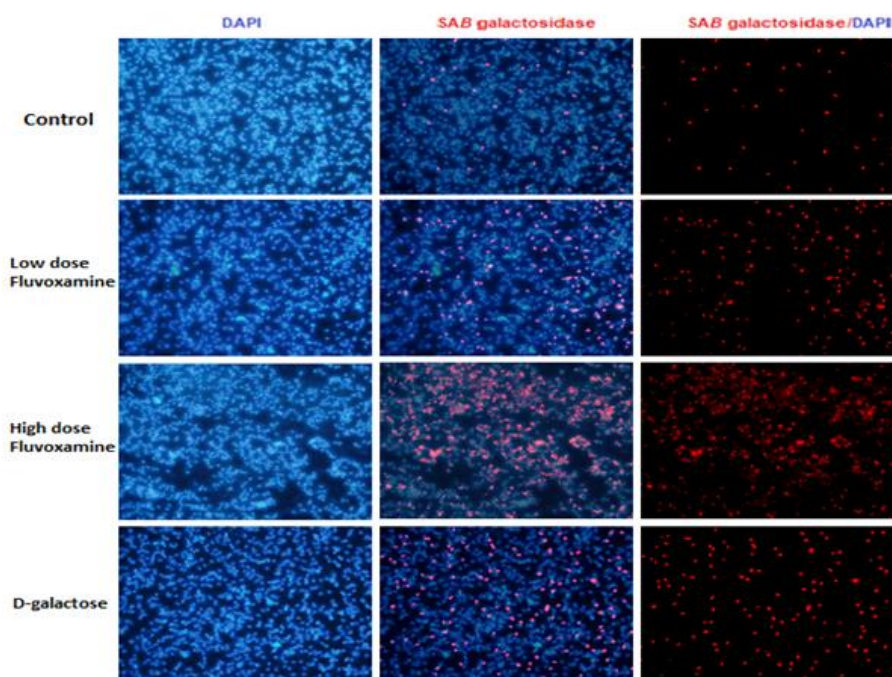
گروه دی - گالاکتوز و نیز قیاس بین گروهی افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.001$) و ($p < 0.01$) (شکل ۱). یافته‌های ایمینو سیتوشیمی افزایش تعداد سلول‌های پیر و بتا گالاکتوز مثبت را در گروه‌های دی - گالاکتوز و تیمار با فلووکسامین با غلظت‌های حداقل و حداکثر را نشان می‌دهد (شکل ۲).

میانگین تعداد سلول‌های پیر در گروه دی گالاکتوز و گروه‌های تیمار فلووکسامین با افزایش غلظت در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.001$) (شکل H). همچنین میانگین تعداد سلول‌های پیر در گروه‌های تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین با افزایش غلظت در مقایسه با



شکل ۱: نمودارهای داده‌های مطالعه A و B: زنده مانی گروه‌های مورد مطالعه

آنالیز داده‌ها و مقایسه بین گروهی نشان از افزایش آماری معنی‌دار زنده مانی در گروه فلووکسامین ۵۰ و کاهش زنده مانی در گروه‌های تیمار فلووکسامین ۱۰۰، ۱۵۰، و دی - گالاکتوز می‌باشد. C: افزایش تعداد سلول‌های BrdU مثبت در گروه تیمار با فلووکسامین ۱۰۰ و کاهش تعداد سلول‌ها در گروه‌های دی - گالاکتوز و تیمار با فلووکسامین ۵۰۰ و قیاس بین گروهی را نشان می‌دهد که از نظر آماری معنی‌دار است. D, E: افزایش تعداد سلول‌های نوروسفر در گروه تیمار با فلووکسامین ۵۰ و ۱۰۰ کاهش تعداد سلول‌ها در گروه‌های تیمار توأم دی - گالاکتوز با فلووکسامین ۵۰۰ و قیاس بین گروهی را نشان می‌دهد. F, G: افزایش تعداد سلول‌های عصبی در گروه تیمار با فلووکسامین ۵۰ و کاهش تعداد سلول‌ها در گروه‌های دی - گالاکتوز و تیمار با فلووکسامین ۱۰۰ و قیاس بین گروهی را نشان می‌دهد. H, I: افزایش تعداد سلول‌های پیر شده در گروه تیمار با فلووکسامین ۵۰۰ و گروه دی - گالاکتوز و همچنین کاهش آماری معنی‌دار تعداد سلول‌ها در گروه‌های کنترل و تیمار با فلووکسامین ۵۰ و ۱۰۰ و قیاس بین گروهی را نشان می‌دهد.



شکل ۲: تصاویر ایمونو سیتوشیمی از سلول‌های پیر شده با افزایش فعالیت بتا گلوکوزیداز در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد (بزرگنمایی ۲۰۰ میکرو مول)

بحث

و کارایی فلووکسامین در جلوگیری از روند پیری

سلول‌های بنیادی عصبی موش در مدل القاء شده با دی گالاکتوز در محیط کشت بود.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که فلووکسامین در دوزهای بالا (۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) دارای اثرات سیتوتوکسیک می‌باشد که منجر به کاهش زنده ماندی و کاهش تعداد سلول‌ها می‌شود. این در حالی است که در دوزهای پایین‌تر زنده ماندی و تعداد سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته است که در این بین بیشترین افزایش در زنده ماندی مربوط به گروه تیمار با دوز ۵۰ فلووکسامین با ۶۰ درصد افزایش در مقایسه با گروه تیمار با دی - گالاکتوز و ۲۸ درصد افزایش در مقایسه با گروه کنترل بود.

فلووکسامین برای درمان افسردگی و اضطراب استفاده می‌شود. علاوه بر تعدیل سروتونین، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است که ممکن است پیری و رشد سلولی را تحت تأثیر قرار دهد. با این حال، دوزهای بالا می‌تواند سمی باشد و خطر پیری سریع و کاهش تکثیر سلولی را به دنبال داشته باشد، در حالی که نویدبخش سلامت روان و تنظیم سلولی است، مطالعه بیشتر در مورد دوز و اثرات طولانی مدت برای متعادل کردن مزایا و خطرات ضروری است و نیاز به درمان روانپزشکی شخصی و تحقیقات مداوم در مورد تأثیر آن بر سلامت سلولی را برجسته می‌کند (۱۷)، لذا هدف از این مطالعه تعیین

قنبری و همکاران در تحقیقی نشان دادند که دی- گالاکتوز می‌تواند با افزایش فاکتورهای التهابی در سلول‌های بنیادی عصبی روند پیری را افزایش دهند که با پژوهش‌های حاضر هم‌سو بود (۱۴). نتایج حاصل از آنالیز گروه‌های تیمار دی- گالاکتوز توأم با فلووکسامین نشان داد که دوزهای پایین فلووکسامین، کاهش زنده‌مانی و کاهش تکثیر سلولی ناشی از دی- گالاکتوز را جبران کرده و اثر محافظتی در برابر اثر القایی دی - گالاکتوز از خود نشان داد در حالی که در دوز های بالاتر (تیمار با دوز ۵۰۰ فلووکسامین توأم با دی - گالاکتوز) زنده‌مانی و تکثیر سلولی را به شکل معنی‌داری کاهش داد. یک مطالعه هم‌سو با یافته‌های حاضر نشان داد که داروهای ضد افسردگی به طور غیر قابل برگشتی بقا و تکثیر سلول‌های زاینده را به روشی وابسته به دوز با توقف چرخه سلولی در فاز G2/M کاهش می‌دهند (۲۴). مطالعه‌ای مشابه نشان داده است که فلووکسامین در غلظت‌های بالا با کاهش بازآرایی رشته L-کاتین، جلوگیری از مهاجرت فاکتور رشد مشتق از پلاکت و افزایش تولید نیتریک اکسید، موجب کاهش زنده‌مانی و تکثیر سلولی در سلول‌های شبکیه موش می‌شود (۲۵). در مطالعه قره‌قانی و همکاران مشخص شد که غلظت‌های پایین فلووکسامین (۰.۵ و ۱ میکرومولار) با افزایش بیان Notch1 mRNA، Hes1 و Ki-67 و بالا رفتن سطح پروتئین NICD، به‌طور معنی‌داری زنده‌مانی و تکثیر سلول‌های بنیادی عصبی را در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی افزایش می‌دهد، اما در غلظت‌های بالاتر (۵۰،

۱۰۰ و ۵۰۰)، اثرات سمی دارد و به صورت وابسته به دوز زنده‌مانی و تکثیر این سلول‌ها را در موش کاهش می‌دهد (۱۷).

فلووکسامین در دوزهای پایین قادر است با کاهش قابل توجه فاکتورهای التهابی و اکسیدانی، به طرز مؤثری زنده‌مانی و تکثیر سلولی در سلول‌های بنیادی عصبی را افزایش دهد. این امر نشان‌دهنده تأثیر مثبت این ماده بر سلامت و عملکرد سلول‌های بنیادی عصبی است که می‌تواند به بهبود شرایط مختلف عصبی کمک کند. در عوض، در دوزهای بالاتر، این دارو احتمالاً با متوقف کردن چرخه سلولی در مرحله G2/M و انتقال به مرحله G0/G1، تأثیر معکوسی بر زنده‌مانی و تکثیر سلولی دارد. این تغییرات به دلیل افزایش بیان پروتئین‌های مهارگر چرخه سلولی اتفاق می‌افتد که در نهایت منجر به کاهش زنده‌مانی و توانایی تقسیم سلولی در این سلول‌ها می‌شود. بنابراین، انتخاب دوز مناسب فلووکسامین بسیار مهم و حیاتی است تا از اثرات منفی در دوزهای بالا جلوگیری شود و در عوض، اثرات مثبت در دوزهای پایین تقویت گردد.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که درمان با فلووکسامین در دوزهای پایین به‌طور معنی‌داری تعداد نوروسفرها را افزایش می‌دهد. بیشترین افزایش مربوط به گروه درمان با غلظت ۵۰ فلووکسامین بود که در مقایسه با گروه کنترل ۲۴ درصد و با گروه دی - گالاکتوز ۱۹۴ درصد (۱/۹۴ برابر) افزایش در تعداد نوروسفرها را نشان داد. در مقابل، درمان با

غلظت ۱۰۰۰ فلووکسامین به‌طور معنی‌داری تعداد نوروسفرها را کاهش داد. تحلیل داده‌ها از گروه‌های درمان دی-گالاکتوز همراه با فلووکسامین نشان داد که غلظت‌های بالای فلووکسامین به‌طور وابسته به غلظت، موجب کاهش تعداد نوروسفرها می‌شود. در حالی که ترکیب دی-گالاکتوز با غلظت‌های پایین فلووکسامین (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰) اثرات سیتوتوکسیک دی-گالاکتوز را جبران کرده و تعداد نوروسفرها را افزایش می‌دهد. به‌طوری که در گروه درمان با دی-گالاکتوز و غلظت ۵۰ فلووکسامین، تعداد نوروسفرها در مقایسه با گروه دی-گالاکتوز ۵۴ درصد افزایش نشان داد.

در یک مطالعه‌ای که به‌طور خاص با پژوهش ما ارتباط دارد، اثرات فلووکسامین در دوزهای کمتر از ۱۰۰ میکرومول را بررسی کردند. این دارو با افزایش بیان mRNA سه ژن مهم *Hes1*، *Notch1* و *Ki-67* و همچنین افزایش سطح پروتئین NICD، به‌طور قابل ملاحظه‌ای تعداد نوروسفرها را افزایش داد. در مقابل، زمانی که دوز فلووکسامین به غلظت‌های بالای ۵۰۰ میکرومول رسید، نتایج نشان‌دهنده بروز سمیت بود که منجر به کاهش معنی‌دار در تعداد نوروسفرها گردید (۱۷).

در مطالعه‌ای دیگر، داروی فلوکستین به عنوان یکی از داروهای معمول ضد افسردگی به کار رفته و تأثیرات آن در غلظت‌های پایین، به ویژه ۱ میکرومولار، به‌طور خاص بررسی شد. در این غلظت پایین، فلوکستین باعث افزایش قابل توجه

فسفوریل‌اسیون Ser9 از GSK-3 β و همچنین افزایش سطح بتا-کاتنین در هسته سلولی گردید که در نتیجه آن تعداد نوروسفرها و همچنین تکثیر سلول‌های پیش‌ساز عصبی جنینی نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است، اما نکته قابل توجه این است که در بالاترین غلظت مورد آزمایش، یعنی ۲۰ میکرومولار، تعداد نوروسفرها و همچنین تکثیر سلولی به‌طرز معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش ممکن است به عنوان نتیجه‌ای از سمیت سلولی ناشی از فلوکستین در این غلظت بالا در نظر گرفته شود، که احتمالاً با عملکرد آنزیم CYP1A و تأثیرات آن بر متابولیسم داروها مرتبط است. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش‌ها نشان‌دهنده اهمیت دقت در انتخاب دوز داروهای مورد استفاده در درمان‌های مرتبط با اختلالات عصبی می‌باشد (۱۶).

در این مطالعه، برای القای پیری سلول از دی-گالاکتوز استفاده شد و تأثیر آن بر پیری سلولی با افزایش سطح بتا-گالاکتوزیداز بررسی گردید. نتایج نشان داد که دی-گالاکتوز به‌طور قابل توجهی فعالیت بتا-گالاکتوزیداز را در سلول‌های بنیادی عصبی افزایش می‌دهد. همچنین، فلووکسامین در دوزهای بالا به شدت سیتوتوکسیک بوده و تعداد سلول‌های پیر را به شکل وابسته به دوز افزایش می‌دهد، در حالی که در دوزهای پایین، تعداد سلول‌های پیر کاهش می‌یابد. آنالیز یافته‌های گروه‌های تیمار شده با دی-گالاکتوز و فلووکسامین نشان داد که فلووکسامین در دوزهای پایین (۲۵ و ۵۰) تعداد سلول‌های پیر ناشی از دی-گالاکتوز را کاهش می‌دهد، اما در دوزهای بالاتر،

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که فلووکسامین به عنوان یکی از مهارکننده‌های بازجذب سروتونین، در دوزهای پایین قادر است به طرز مؤثری زنده‌مانی و تکثیر سلولی را افزایش دهد. این تأثیر مثبت بیشتر ناشی از اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی این ترکیب است که می‌تواند به بهبود سلامت سلولی منجر شود. با این حال، در دوزهای بالا، وضعیت تغییر می‌کند. افزایش رادیکال‌های اکسیژن در این دوزها باعث توقف چرخه سلولی می‌گردد. علاوه بر این، افزایش بیان فاکتورهای مربوط به پیری در چنین شرایطی، منجر به افزایش مارکرهای پیری در سلول‌ها و در نتیجه القای پیری در سلول‌های بنیادی عصبی می‌شود. این مشکلات به‌ویژه در نوروسفرها و سلول‌های بنیادی عصبی نمایان می‌شود و در نهایت موجب کاهش زنده‌مانی و قابلیت تکثیر این سلول‌ها می‌گردد. به‌علاوه، این وضعیت باعث افزایش تعداد سلول‌های پیر در این سیستم‌ها می‌شود که می‌تواند عواقب منفی بر روندهای طبیعی سلولی داشته باشد. بر این اساس، نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده لزوم انجام پژوهش‌های بیشتر در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی می‌باشد تا تأثیرات این ترکیب به‌طور جامع‌تر و دقیق‌تری بررسی گردد.

باعث افزایش این تعداد نسبت به گروه دی - گالاکتوز می‌شود، به طوری که در دوز ۵۰۰ فلووکسامین، تعداد سلول‌های پیر ۴۱ درصد افزایش یافت. بنابراین، دوزهای بالای فلووکسامین با افزایش نشانگرهای پیری، منجر به القای پیری سلول می‌شوند (۲۶).

در مطالعه‌ای مشابه، ثابت شد که درمان مزمن فلووکستین به طور معنی‌داری تعداد سلول‌های پیر در ناحیه ساب‌گرانولار ناحیه شکنج دانه‌دار مغزی موش را افزایش می‌دهد. همچنین دیگر داروهای ضدافسردگی (ایمی‌پرامین، کلومیپرامین و سیتالوپرام) در دوزهای بالا با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، تعداد سلول‌های پیر و القای پیری در سلول‌های لوسمی حاد میلوئیدی انسان را افزایش می‌دهند، لذا می‌توان نتیجه گرفت که دوزهای بالای فلووکسامین احتمالاً از طریق افزایش رادیکال‌های اکسیژن، به عنوان یکی از عوامل مؤثر در پیری سلول، تعداد سلول‌های پیر و در نتیجه القای پیری در سلول‌های بنیادی عصبی موش را افزایش می‌دهند (۲۷).

محدودیت‌ها در غلظت‌های کمتر از ۱۰ میکرومولار و بیشتر از ۱۰۰ میکرومولار سلول‌ها دچار آپوپتوز شده و بنابراین مراحل کشت مجدد تکرار گشت. همچنین آلودگی در محیط انکوباتور باعث تکرار مجدد گردید، لذا پیشنهاد می‌شود محیط زیر هود لامینار و انکوباتور برای نگهداری کشت سلول مرتباً از نظر آلودگی بررسی و استریل گردد.

تقدیر و تشکر

سعید جاودان سیرت در انجام کشت سلولی و انجام آزمایشات زنده مانی سلول مشارکت داشته اند.

نویسندگان این مطالعه از مسئولین مرکز تحقیقات گیاهان دارویی برای و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی یاسوج که با ما همکاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

حمایت مالی

محققین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه که از این طرح حمایت مالی نموده اند، کمال تشکر را دارند.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکتر ساناز باقری دانشجوی پزشکی از دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1402.10 می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

امیر قنبری طراحی موضوع، انجام ایمونوسیتوشیمی و کشت سلول، مهرزاد جعفری بر مک در انجام نتایج آماری، نوشتن مقاله، ساناز باقری و

REFERENCES

1. Barmak MJ, Nouri E, Shahraki MH, Ghalamfarsa G, Zibara K, Delaviz H, et al. Safflower seed oil, a rich source of linoleic acid, stimulates hypothalamic neurogenesis in vivo. *Anatomy & Cell Biology* 2023; 56(2): 219-27.
2. Allen WE. DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. *Journal of Anatomy* 2008; 213(3): 357.
3. Bizzoco E, Lolli F, Repice AM, Hakiki B, Falcini M, Barilaro A, et al. Prevalence of neuromyelitis optica spectrum disorder and phenotype distribution. *Journal of Neurology* 2009; 256: 1891-8.
4. De Gioia R, Biella F, Citterio G, Rizzo F, Abati E, Nizzardo M, et al. Neural stem cell transplantation for neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 21(9): 3103.
5. Kokoeva MV, Yin H, Flier JS. Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. *Science* 2005; 310(5748): 679-83.
6. Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annual Review of Neuroscience* 2009; 32: 149-84.
7. Zhang GL, Zhu ZH, Wang YZ. Neural stem cell transplantation therapy for brain ischemic stroke: Review and perspectives. *World Journal of Stem Cells* 2019; 11(10): 817.
8. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *Journal of Neuroscience* 1996; 16(6): 2027-33.
9. Negintaji K, Ghanbari A, Jafarinia M, Zibara K. Pregnenolone enhances the proliferation of mouse neural stem cells and promotes oligodendrogenesis, together with Sox10, and neurogenesis, along with Notch1 and Pax6. *Neurochemistry International* 2023; 163: 105489.
10. Aryanpour R, Zibara K, Pasbakhsh P, Jame'ei SB, Namjoo Z, Ghanbari A, et al. 17 β -Estradiol reduces demyelination in cuprizone-fed mice by promoting M2 microglia polarity and regulating NLRP3 inflammasome. *Neuroscience* 2021; 463: 116-27.
11. Regulski MJ. Cellular senescence: what, why, and how. *Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice* 2017; 29(6): 168-74.
12. Tabebordbar M, Wang ET, Wagers AJ. Skeletal muscle degenerative diseases and strategies for therapeutic muscle repair. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2013; 8: 441-75.
13. Going S, WILLIAMS D, LOHMAN T. Aging and body composition: biological changes and methodological issues. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 1995; 23(1): 411-58.
14. Ghanbari A, Danaie Fard P, Azarmehr N, Mahmoudi R, Rooshbehi A, Zibara K, et al. D-galactose Induces Senescence in Adult Mouse Neural Stem Cells by Imbalanced Oxidant and Antioxidant Activity and Differential Expression of Specific Hub Genes. *Molecular Neurobiology* 2024; 14: 1-14.
15. Azman KF, Zakaria R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview. *Biogerontology* 2019; 20(6): 763-82.
16. Hui J, Zhang J, Kim H, Tong C, Ying Q, Li Z, et al. Fluoxetine regulates neurogenesis in vitro through modulation of GSK-3 β / β -catenin signaling. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2015; 18(5): pyu099.
17. Ghareghani M, Zibara K, Sadeghi H, Dokoochaki S, Sadeghi H, Aryanpour R, et al. Fluvoxamine stimulates oligodendrogenesis of cultured neural stem cells and attenuates inflammation and demyelination in an animal model of multiple sclerosis. *Scientific Reports* 2017; 7(1): 4923.
18. Deshpande K, Saatian B, Martirosian V, Lin M, Julian A, Neman J. Isolation of neural stem cells from whole brain tissues of adult mice. *Current Protocols in Stem Cell Biology* 2019; 49(1): e80.
19. Reynolds BA, Rietze RL. Neural stem cells and neurospheres—re-evaluating the relationship. *Nature Methods* 2005; 2(5): 333-6.
20. Hu Q, Huang L, Zhao C, Shen Y, Zheng XF, Wang Y, et al. Ca²⁺-PKC α -ERK1/2 signaling pathway is involved in the suppressive effect of propofol on proliferation of neural stem cells from the neonatal rat hippocampus. *Brain Research Bulletin* 2019; 149: 148-55.
21. Marshall GP, Reynolds BA, Laywell ED. Using the neurosphere assay to quantify neural stem cells in vivo. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 2007; 8(3): 141-5.
22. Nagyova M, Slovinska L, Blasko J, Grulova I, Kuricova M, Cigankova V, et al. A comparative study of PKH67, Dil, and BrdU labeling techniques for tracing rat mesenchymal stem cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal* 2014; 50: 656-63.

- 23.Flanagan LA, Ziaieian B, Palmer T, Schwartz PH. Immunocytochemical analysis of stem cells. Human Stem Cell Manual: Elsevier; 2007; 108-26.
- 24.Solek P, Mytych J, Tabęcka-Łonczyńska A, Koziorowski M. Molecular consequences of depression treatment: A potential in vitro mechanism for antidepressants-induced reprotoxic side effects. International Journal of Molecular Sciences 2021; 22(21): 11855.
- 25.Hodrea J, Tran MN, Besztercei B, Medveczki T, Szabo AJ, Orfi L, et al. Sigma-1 Receptor Agonist Fluvoxamine Ameliorates Fibrotic Response of Trabecular Meshwork Cells. International Journal of Molecular Sciences 2023; 24(14): 11646.
- 26.Imoto Y, Kira T, Sukeno M, Nishitani N, Nagayasu K, Nakagawa T, et al. Role of the 5-HT 4 receptor in chronic fluoxetine treatment-induced neurogenic activity and granule cell dematuration in the dentate gyrus. Molecular Brain 2015; 8: 1-12.
- 27.Xia Z, Lundgren B, Bergstrand A, DePierre JW, Nässberger L. Changes in the generation of reactive oxygen species and in mitochondrial membrane potential during apoptosis induced by the antidepressants imipramine, clomipramine, and citalopram and the effects on these changes by Bcl-2 and Bcl-XL. Biochemical Pharmacology 1999; 57(10): 1199-208.

The Efficacy of *Fluvoxamine* in Preventing the Aging Process of Mouse *Neural Stem Cells* in a *Di-galactose*-Induced Model in a Culture Medium

Jafari Barmak M¹, Bagheri S², Javedansirat S¹, Ghanbari A^{3*}

¹Cellular and Molecular Research Center, Yasuj, ²Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received Date: 17 Dec 2024 Accepted Date: 24 Feb 2024

Abstract

Background & aim: Cellular senescence is an irreversible process in cells that is affected by various factors such as oxidative stress and inflammation, and the importance of this issue rises in its effect on neural stem cells. Fluvoxamine at appropriate concentrations provides proliferation and differentiation of neural stem cells into glial and neurons and modulates inflammatory factors. Therefore, considering the mechanism of the aging process on neural stem cells, the present study investigated the effects of fluvoxamine in culture.

Methods: The present experimental study was conducted in 2023. Neural stem cells were isolated from the subventricular zone of the adult male mouse brain and cultured using a standard method to generate neurospheres. Cell viability, number of neurospheres and cells in the control group, the D-galactose treatment group (20 mg/cc), the fluvoxamine treatment groups with different concentrations, and the D-galactose and fluvoxamine combined groups were measured using the MTT method. The number of neurospheres, the number of proliferating cells and senescent cells were also counted. The collected data were analyzed using the one-way analysis of variance statistical test.

Results: The survival of neural stem cells in the low-dose fluvoxamine group was higher than in the control group but significantly decreased with increasing doses ($p<0.001$). In contrast, the D-galactose group indicated a significant decrease compared to the control ($p<0.01$). Low-dose fluvoxamine combined with D-galactose significantly increased survival compared to the D-galactose group ($p<0.001$) but decreased in the high-dose groups. The number of neurospheres in the D-galactose group was significantly lower than in the control group ($p<0.001$), while the combination treatment with 50 nM fluvoxamine showed a significant increase compared to D-galactose alone ($p<0.01$). The average number of BrdU-positive cells in the 100 fluvoxamine group increased significantly compared to the control ($p<0.001$), whereas in the D-galactose group, it was significantly reduced ($p<0.01$). D-galactose and low-dose fluvoxamine treatment increased BrdU-positive cells compared to D-galactose treatment alone. The average number of neural stem cells in the D-galactose groups dropped significantly compared to the control, but the combination with 50 nM fluvoxamine led to a significant increase ($p<0.001$). The average number of senescent cells rose significantly with higher fluvoxamine doses compared to the control, and treatment with D-galactose also elevated senescent cell counts. However, combining D-galactose with low concentrations of fluvoxamine resulted in a significant decrease in senescent cells compared to D-galactose alone ($p<0.0001$).

Conclusion: The results of the present study indicated that fluvoxamine, prescribed for the treatment of major depression and obsessive-compulsive disorders, while increasing the survival and viability of cells at low doses, demonstrated significant toxicity at higher doses in a dose-dependent manner. Furthermore, it elevated aging-related factors and induced aging in neural stem cells under ex vivo conditions. In other words, it reduced the survival of neural stem cells, the number of neurospheres, and the number of cells derived from each neurosphere, while simultaneously it increased the number of aged cells. These findings necessitate further investigations in both in vivo and in vitro environments.

Keywords: Fluvoxamine, Aging, D-galactose, neural stem cells

***Corresponding author:** Ghanbari A, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

Email: amirghanbari52@yahoo.com

Please cite this article as follows: Jafari Barmak M, Bagheri S, Javedansirat S, Ghanbari A. The Efficacy of *Fluvoxamine* in Preventing the Aging Process of Mouse *Neural Stem Cells* in a *Di-galactose*-Induced Model in a Culture Medium. Armaghane-danesh 2025; 30(1): 18-32.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal