Evaluation of astaxanthin effects on the survival and proliferation of human adipose derived stem cells

Ghasemi N., PhD[1]
1.Assistant Professor, Department of Anatomical Science and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran (Corresponding Author), Tel:+98-311-7929156, n_ghasemi@med.mui.ac.ir

ABSTRACT
Background and Aim: In order to enhance in vivo stem cell viability and considering similar anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of human adipose derived stem cells (hADSCs) and astaxanthin (AST) and their ability to cross the blood-brain barrier, we investigated the effects of (AST) on hADSCs proliferation and viability to provide a supplement for cell based therapy in MS patients.
Materials and methods: After isolation of hADSCs and assessment of CD markers, they were cultured in DMEM-F12 medium in the presence of AST at various concentrations (1, 5, and 10 ng/ml) for 72 h. Finally, we assessed cell proliferation and cell viability by MTT and Tryphan Blue methods.
Results: The results revealed that a high percentage of hADSCs expressed CD90 and CD44 markers and a low percentage of them expressed hematopoietic cell markers. In addition, in the group cultured in the presence of 5 ng/ml AST the mean percentage of cell viability increased significantly compared to other groups ($p = 0.04$). Tryphan Blue results also revealed significant effect of AST on stem cell proliferation and culture of these cells in the presence of 5 ng/ml of AST, led to significant increase in the mean percentage of cell count compared to the results of the control group ($p = 0.03$).
Conclusion: Astaxanthin can increase hADSCs proliferation and survival and this agent can be used in the cell-based therapies in MS patients.
Key words: Astaxanthin, Cell proliferation, Cell survival.

Received: Apr 18, 2017 **Accepted:** Jul 15, 2017

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

ارزیابی اثرات آستاگزانتین بر زیست پذیری و تکثیر سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی انسان

ناظم قاسمی[۱]

۱.استادیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران، (مولف مسوول)، تلفن ثابت:۳۷۹۲۹۱۵۶-۰۳۱،

n_ghasemi@med.mui.ac.ir

چکیده

مقدمه: به منظور افزایش زیست پذیری سلول های بنیادی در محیط درونی بدن و با توجه به اثرات مشترک ضد التهابی و ضد آپوپتوزی سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی انسان human adipose derived stem cells (hADSCs) و آستاگزانتین و توانایی عبور آنها از سد خونی مغزی، در این مطالعه اثرات آستاگزانتین بر بقاء و تکثیر سلول های hADSCs با هدف دستیابی به یک مکمل در سلول درمانی بیماری MS، مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: بعد از جداسازی سلول های hADSCs و بررسی CD مارکرها ، این سلول ها به مدت ۷۲ ساعت در محیط DMEM-F12 و در حضور غلظت های مختلف آستاگزانتین (1ng/ml)، (5 ng/ml) و (10 ng/ml) کشت داده شدند. نهایتا تکثیر و زیست پذیری سلول ها با استفاده از روش های Tryphan Blue و MTT مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که درصد بالایی از سلول های hADSCs ، مارکرهای CD90 و CD44 و درصد پایینی از آنها مارکرهای سلول های خونساز را بیان کردند. بعلاوه میانگین درصد بقاء در سلول های تیمار شده با ۵ نانوگرم آستاگزانتین در مقایسه با سایر گروه ها به صورت معنی داری افزایش یافته است (P=۰/۰۴). نتایج تریپان بلو هم نشان داد که آستاگزانتین اثر قابل توجهی در تکثیر سلول های بنیادی دارد و میانگین تعداد سلول ها در گروه تیمار شده با ۵ نانوگرم آستاگزانتین نسبت به گروه کنترل، به صورت معنی داری افزایش یافته است (P=۰/۰۳).

نتیجه گیری: آستاگزانتین توانایی افزایش بقاء و تکثیر سلول های hADSCs را دارد و از این ماده می توان در درمان های مبتنی بر سلول، در بیماری MS استفاده کرد.

واژه گان کلیدی: آستاگزانتین، تکثیر سلولی، بقای سلولی

وصول مقاله:۹۶/۱/۲۹ اصلاحیه نهایی:۹۶/۳/۲۳ پذیرش:۹۶/۴/۲۴

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

مقدمه

اخیرا کاربرد سلول های بنیادی در درمان برخی از بیماری ها، به عنوان یک روش درمانی جدید توسط محققین مطرح شده است که می توان به پیوند سلول های بنیادی در درمان بیماری MS اشاره کرد (۲و ۱). سلول های بنیادی خواستگاه و منشاء انواع سلول ها در بدن می باشند و از جمله ویژگی های مهم این سلول ها می توان به توانایی تکثیر بالا (۳) و قابلیت تمایز به رده های مختلف سلولی (۵و ۴) اشاره کرد. اخیرا بافت چربی به عنوان یک منبع مناسب از سلول های بنیادی برای درمان مبتنی بر سلول مورد توجه قرار گرفته است، چرا که سلول های بنیادی موجود در این بافت را می توان به مقدار کافی و با حداقل دستکاری های جراحی جداسازی کرد (۶). توانایی تمایز بالای این سلول ها به انواع سلول ها بویژه سلول های عصبی در شرایط آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۸و ۷). اما بررسی های سلولی بعد از پیوند این سلول ها در مدل های حیوانی بیماری MS نشان داده است که تنها درصد کمی از سلول های پیوند شده به سلول های سازنده ی میلین تمایز پیدا کرده اند (۱). بنابراین استفاده از مکمل دیگری که بتواند نتایج پیوند سلولی را بهبود ببخشد به نظر ضروری می رسد. آستاگزانتین (Astaxanthin) یک کاروتنوئید گزانتوفیل است که در انواع مختلفی از میکروارگانیسم ها و حیوانات دریایی یافت می شود و اثرات بیولوژیکی قوی تری نسبت به سایر کاروتنوئیدها دارد (۹). جلبک ها، مخمر، قزل آلا، میگو از جمله منابع طبیعی آستاگزانتین می باشند (۱۳-۱۰). خاصیت آنتی اکسیدانی آستاگزانتین ده برابر بیشتر از بتا کاروتن ها ، zeaxanthin، canthaxanthin ، lutein و صد برابر بیشتر از ویتامین E (آلفا-توکوفرول) می باشد (۱۴). در مطالعات مختلف اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانتی و ضد آپوپتوزی آستاگزانتین مورد بررسی قرار گرفته است (۱۶و ۱۵). این ترکیب اثرات حفاظتی در برابر صدمات اولیه مغز، از طریق سرکوب التهابات مغزی را از خود نشان داده است و تخریب عصبی و سدخونی مغزی، ادم مغزی و اختلال در عملکرد عصبی تماما بعد از مصرف آستاگزانتین کاهش پیدا کرده است (۱۷).

معمولا در سلول درمانی به منظور حمایت و پیشبرد تمایز سلول های پیوند شده از فاکتور های نوروتروفیک استفاده می شود. این فاکتور های پروتئینی نقش مهمی در جلوگیری از مرگ نورونی، بقاء و پیشرفت تمایز نورونی، تنظیم انتشار نوروترانسمیترها، رشد دندریت ها ، نگهداری و محافظت از آکسون ها، کنترل شرایط پاتولوژیک (درد، پرخاشگری، افسردگی) و بهبود عملکرد های رفتاری اجتماعی داشته و مطالعات نشان می دهند که استفاده از این فاکتور بعد از آسیب های عصبی از دژنراسیون نورونی جلوگیری می کند (۲۱-۱۸). صرفنظر از هزینه های بالای تهیه ی این فاکتور ها ، به دلیل نیمه عمر کوتاه فاکتورهای نوروتروفیکی، در صورتیکه بتوان از عوامل نوروتروفیک دیگری استفاده کرد می توان با صرف هزینه های کمتر، کارایی سلول درمانی را افزایش داد. لذا با تکیه بر توانایی عبور سلول های hADSCs و استاگزانتین از سد خونی مغزی، درصورتیکه آستاگزانتین در تکثیر و بقاء سلول های hADSCs تاثیر داشته باشد، از این ترکیب می توان برای افزایش کارایی پیوند سلول های hADSCs در درمان بیماری MS بهره برد.

روش بررسی

جدا سازی و کشت سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی انسان

این مطالعه از نوع تجربی می باشد که در ان به منظور جداسازی hADSCs، پس از اخذ رضایت، چربی زیر پوستی ناحیه شکم افرادی که برای عمل لیپوساکشن به بیمارستان مراجعه کرده بودند، برداشته شد و بعد از شستشو با محلول PBS ، تجزیه مکانیکی و آنزیمی با استفاده از آنزیم کلاژناز I با غلظت ۰/۰۷۵ درصد انجام شد. در ادامه

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

سوسپانسیون بدست امده سانتریفوژ شد و بعد از حذف محیط رویی، رسوب سلولی موجود در کف لوله سانتریفوژ در محیط کشت DMEM –F12 حل شد و نهایتا سوسپانسیون سلولی در فلاسک های ویژه کشت سلولی و در شرایط استاندارد (Co2 5% و 37oC) کشت داده شدند.

تکنیک های ایمونوسیتوشیمی و فلوسیتومتری جهت بررسی مارکرهای سطحی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی

به منظور بررسی CD مارکرهای ویژه سلول های hADSC، از سلول های کشت داده شده در پاساژ سوم استفاده شد. به منظور انجام تکنیک ایمونوسیتوشیمی، بعد از شستشوی hADSC با محلول BSA/PBS، در شرایط تاریکی و دمای ۴ oC آنتی بادی ویژه مارکرهای سطحی سلول ها شامل Anti- CD90, CD44, CD14, and CD45 متصل به رنگ فلورسنت به مدت ۴۵ دقیقه در مجاورت سلول ها قرار داده شد. بعد از شستشو با محلول PBS، رنگ DAPI جهت رنگ آمیزی هسته سلول ها استفاده شد. در ادامه به منظور حذف رنگ اضافی، نمونه ها سه بار با محلول PBS شستشو داده شدند و بعه از چسباندن لامل بر روی لام، تعداد ۲۰۰ سلول در چند فیلد و با تکرار ۳ بار برای هر نمونه با کمک میکروسکوپ فلورسنس (مدل BX51، ژاپن) شمارش شد و میانگین درصد سلول های بیان کننده هر مارکر گزارش شد. در ادامه تکنیک فلوسیتومتری به منظور تایید نتایج ایمونوسیتوشیمی انجام شد. به این منظور سلول های بنیادی پاساژ سوم با استفاده از آنزیم تریپسین از کف فلاکس ها جداسازی شدند و بعد از شستشوی سلول ها با استفاده از محلول PBS، تعداد 10^4 سلول در معرض آنتی بادی های Anti- CD90, CD44, CD14, and CD45 متصل به رنگ فلورسنت به مدت ۳۰ دقیقه بر روی یخ قرار داده شدند. در پایان نمونه ها سه بار با محلول PBS شستشو داده شدند و نهایتا با استفاده از دستگاه فلوسیتومتر (Becton–Dickinson, San Jose, CA) مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی میزان زنده مانی سلولی با روش MTT

به منظور بررسی و مقایسه زیست پذیری سلول ها، تعداد 4×10^4 سلول از پاساژ سوم در چهار گروه شامل گروه کنترل، گروه تیمار شده با ۱ نانوگرم AST، گروه تیمار شده با ۵ نانوگرم AST و گروه تیمار شده با ۱۰ نانوگرم AST قرار گرفت و در شرایط استاندارد و با استفاده از محیط کشت DMEM –F12 به مدت ۷۲ ساعت کشت داده شد. بعد از این دوره زمانی محیط کشت سلولهای هر چهار گروه تخلیه شد و مدیوم به همراه محلول MTT (5mg/ml)(به نسبت یک به ده) به چاهک ها اضافه گردید و در شرایط استاندارد به مدت ۴ ساعت نگهداری شد. بعد از تخلیه مدیوم ، ۴۰۰ میکرولیتر (Dimethyl Sulphoxide) DMSO به چاهک ها اضافه شد و عمل پیپت سلولی انجام شد. در نهایت جذب نوری هر نمونه با استفاده از دستگاه الایزا مشخص شد. لازم به ذکر است که این تکنیک سه بار تکرار شد و نتایج حاصله به شکل میانگین گزارش گردید.

شمارش سلولی با استفاده از روش تریپان بلو

تعداد 4×10^4 سلول بنیادی در چهار گروه و با دوز های مختلف AST به مدت ۷۲ ساعت و در شرایط استاندارد کشت داده شدند. شمارش سلولی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از زمان اولیه با کمک لام نئوبار و رنگ آمیزی تریپان انجام شد. میانگین سلول ها بعد از سه بار تکرار برای هر نمونه مشخص و گزارش گردید.

آنالیز آماری داده ها

داده های بدست آمده دارای توزیع نرمال بودند و با استفاده از نرم افزار SPSS و با کمک آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج حاصله بصورت Mean± SE گزارش گردید و P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

یافته ها

مورفولوژی سلولهای بنیادی مشتق از بافت چربی

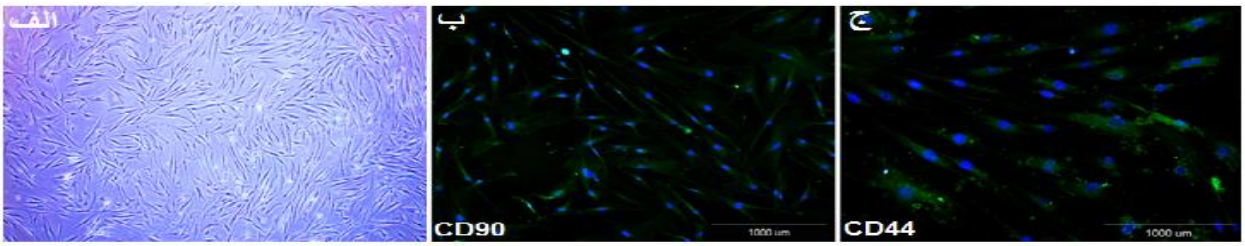
۴۸ ساعت بعد از قرار دادن سوسپانسیون سلولی در فلاسک های کشت، سلول های بنیادی به ته فلاسک ها چسبندگی پیدا کردند. با گذشت زمان تغییر مورفولوژی سلولی از حالت گرد به حالت دوکی شکل شدن مشاهده گردید (شکل الف-۱). جهت تیمار سلولی با AST، از سلول های پاساژ سوم به لحاظ داشتن ظاهری نسبتا یکنواخت استفاده شد.

تکنیک ایمونوسیتوشیمی و فلوسیتومتری جهت بررسی مارکرهای سطحی سلول ها بنیادی

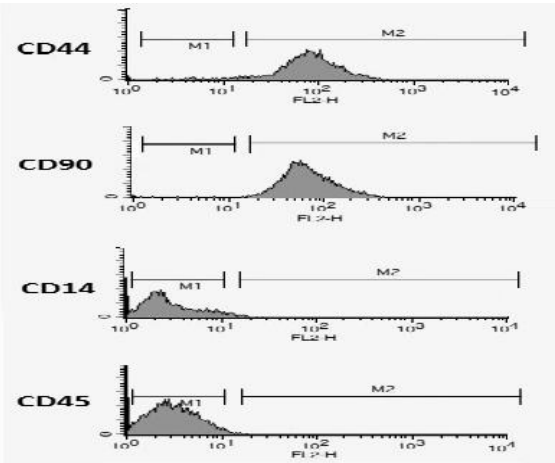
نتایج بررسی مارکرهای سطحی سلول های بنیادی با استفاده از فلوسیتومتری نشان داد که حدود ۹۶/۵ درصد از سلول های hADSCs مارکر CD90، حدود ۹۴ درصد از آنها مارکر CD44، ۲ درصد مارکر CD14 و تنها ۱,۵درصد از آنها مارکر CD45 را بیان کردند. (شکل ب-۱ و ج-۱، شکل ۲).

MTT و زیست پذیری سلول های بنیادی

میانگین درصد بقاء سلولی ۷۲ ساعت بعد از تیمار کردن سلول ها با AST، با تکنیک MTT بررسی شد و نتایج حاصله نشان داد که میانگین درصد زیست پذیری سلول های تیمار شده با ۵ نانوگرم AST (۱۳۴ ± ۰/۳۵) در مقایسه با سلول های تیمار شده با ۱ نانوگرم AST (۱۱۱/۵ ±۰/۲۱) و ۱۰ نانوگرم AST (۱۰۷ ±۰/۱۰) به صورت معنی داری افزایش پیدا کرده است (نمودار ۱) (P=۰/۰۴).



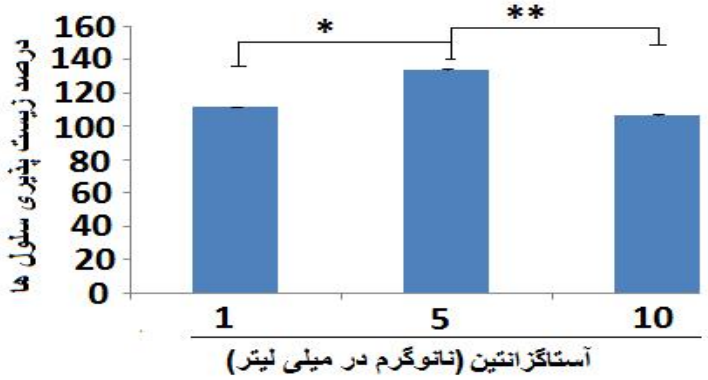
شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ فازکنتراست و فلوئورسنس از مورفولوژی سلولی و بیان مارکرهای سطحی ویژه سلول های بنیادی. (الف) سلول های بنیادی در پاساژ سوم با مورفولوژی سلول های فیبروبلاست با بزرگنمایی × ۴۰، (ب) بیان مارکر سطحی CD90 و (ج) بیان مارکر سطحی CD44 در سلول های بنیادی.



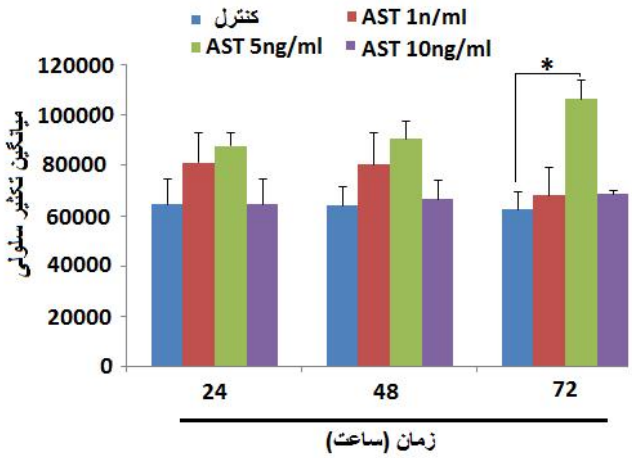
شکل ۲: تصاویر فلوسیتومتری و بیان مارکرهای سطحی ویژه سلول های بنیادی. درصد بالایی از سلول های hADSCs مارکرهای CD90، و CD44، و درصد پایینی از آنها مارکرهای CD14 و CD45 را بیان کردند.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]



نمودار ۱: مقایسه ی میانگین درصد قابلیت زیست پذیری سلولها در گروه های تیمار شده با آستاگزانتین. میانگین درصد بقاء در سلول های تیمار شده با ۵ نانوگرم آستاگزانتین در مقایسه با سایر گروه ها به صورت معنی داری افزایش یافته است (P=۰,۰۴ *).



نمودار ۲: مقایسه ی میانگین درصد تکثیر سلولهای بنیادی با روش تریپان بلو. آستاگزانتین در همه ی گروه ها باعث افزایش میانگین تعداد سلول های بنیادی شده است که در گروه تیمار شده با ۵ نانوگرم نسبت به گروه کنترل، به صورت معنی داری افزایش یافته است (P=۰,۰۳ *)

روش تریپان بلو و شمارش سلولی

نتایج حاصله از روش تریپان بلو نشان داد که آستاگزانتین اثر قابل توجهی در تکثیر سلول های بنیادی دارد به شکلی که میانگین تعداد سلول ها در همه گروه های تیمار شده با AST نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است. بعلاوه ۷۲ ساعت بعد از تیمار کردن سلول ها، تعداد سلول ها در گروه ۵ نانوگرم آستاگزانتین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (P=۰/۰۳)(نمودار ۲).

بحث

در پژوهش حاضر اثرات آستاگزانتین بر تکثیر و زیست پذیری سلول های hADSCs مورد بررسی قرار گرفته است. سلول درمانی معمولا با هدف جایگزین کردن سلول های آسیب دیده در بدن انجام می شود. علاوه بر این توانایی عبور سلول ها از سد خونی مغزی جهت درمان برخی از بیماری ها نظیر بیماری MS نباید نادیده گرفته شود. بنابراین نوع سلول استفاده شده به لحاظ داشتن قدرت کافی برای تکثیر و تمایز به رده سلولی مورد نظر، بسیار مهم

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

می باشد. همانطوری که در شکل ۱ دیده می شود سلول های hADSCs ظاهر شبه فیبروبلاست دارند و مارکرهای ویژه سطحی را در سطح بالایی بیان کردند. بعلاوه بیان مارکرهای ویژه سلول های خونی در سطح پایین بود و این نتایج در راستای مطالعات قبلی می باشد (۲۲و ۷). نتایج تکنیک تریپان بلو نشان داد که سلول های hADSCs در گروه کنترل در طول مطالعه قدرت تکثیر سلولی را حفظ کرده اند. بعلاوه در گروه هایی که hADSCs تحت تاثیر آستاگزانتین قرار گرفتند تکثیر سلولی نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرد که این افزایش در گروه تیمار شده با ۵ نانوگرم آستاگزانتین نسبت به گروه کنترل از لحاظ آماری متفاوت بود. این یافته ها با نتایج مطالعات قبلی همخوانی ندارد (۲۴ و۲۳). در این مطالعات آستاگزانتین در دوز ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر باعث افزایش تکثیر و بقاء سلول های بنیادی نورونی و پیش ساز نورونی شده است. از جمله فرضیه هایی که می توان در توجیه این تفاوت بیان کرد آن است که سلول های hADSCs بر خلاف سلول های بنیادی نورونی توانایی بالایی در ترشح انواع مختلف فاکتورهای رشد را دارند (۲۵). این فاکتور ها می توانند با اثر بر مکانیسم های درون و برون سلولی درگیر در بیان ژن های درگیر در سیکل سلولی، تکثیر و زیست پذیری سلولی را تحت تاثیر قرار دهند. در راستای نتایج مطالعه حاضر، Jeong-Hwan Kim و همکاران در مطالعه ی خود نشان دادند که آستاگزانتین از طریق فعال کردن مسیر های ملکولی phosphatidylinositol 3-kinase و Mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase kinase می تواند باعث افزایش تکثیر سلول های پیش ساز عصبی شود (۲۶).

علاوه بر افزایش تکثیر سلولی ، نتایج MTT هم نشان داد که آستاگزانتین باعث افزایش زیست پذیری سلولی می شود و بالاترین زیست پذیری سلول ها در دوز ۵ نانوگرم در لیتر استاگزانتین می باشد. در توجیه آن می توان گفت که آستاگزانتین می تواند با کاهش استرس های اکسیداتیو باعث افزایش زیست پذیری سلولی شود.در راستای این نتایج، Jang و همکاران در مطالعه ی خود نشان دادند که آستاگزانتین با مهار بیان ژن های درگیر در آپاپتوز سلولی و کاهش استرس های اکسیداتیو می تواند باعث افزایش زیست پذیری سلولی شود (۲۷).

با تکیه بر توانایی عبور سلول های hADSCs از سد خونی مغزی پیوند موفقیت آمیز این سلول ها در مدل های حیوانی برخی بیماریها نظیر بیماری MS انجام شده است (۹و۱). با این حال، نتایج این مطالعات نشان داده است که تمایز سلول های پیوند شده به سلول های میلین ساز در حد مطلوب نمی باشد. آپاپتوز سلولی و یا پتانسیل تکثیر پایین سلول های پیوند شده در شرایط درونی بدن از جمله فرضیه هایی است که می توان در توجیه عدم کفایت پیوند سلولی به آن اشاره کرد. با توجه به مطالب بالا، استفاده از ماده ای دیگر به عنوان مکمل جهت افزایش کارایی پیوند سلول های hADSCs به نظر ضروری می رسد. آستاگزانتین به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بالا و اثرات ضد التهابی، ضد آپوپتوزی (۱۶و ۱۵) به نظر مکمل مناسبی برای سلول های hADSCsمی باشد. این ماده مشابه با سلول های hADSCs توانایی عبور از سد خونی مغزی را دارد (۲۵و۱۵) و همانطوری که دیده شد می تواند بر تکثیر و قابلیت زیست پذیری این سلول ها اثر مثبت داشته باشد. لذا استفاده از آن می تواند کارایی پیوند سلول های hADSCs را در درمان بیماری MS افزایش دهد. در مجموع با توجه به فعالیت ضد آپوپتوزی (۲۸و۱۶)، ضد التهابی (۲۹و۱۷) و توانایی عبور از سد خونی مغزی (۳۰و ۲۲و ۱۵) که از جمله ویژگی های مشترک ما بین سلول های hADSCs و آستاگزانتین می باشند می توان گفت که احتمالا استفاده از آستاگزانتین به همراه پیوند سلول های hADSCs باعث بهبود نتایج سلول درمانی در بیماری MS خواهد شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

نتیجه گیری

با توجه به اثبات اثرات مفید آستاگزانتین بر افزایش بقاء و تکثیر سلول های hADSCs و با تکیه بر اثرات ضد التهابی، ضد آپوپتوزی و عبور از سد خونی مغزی مشترک ما بین سلول های hADSCs و آستاگزانتین، استفاده از آستاگزانتین می تواند باعث افزایش کارایی پیوند سلول های hADSCs در درمان بیماری MS شود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل طرح پژوهشی شماره ۱۹۴۲۶۷ مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و با کد اخلاق IR.MUI.REC.1394.1.267می باشد که نویسنده بدینوسیله از مسئولین محترم تشکر می نماید.

Reference

1.Ghasemi N, Razavi S, Mardani M, Esfandiari E, Salehi H, Esfahani SH. Transplantation of human adipose-derived stem cells enhances remyelination in lysolecithin-induced focal demyelination of rat spinal cord. Molecular biotechnology 2014; 56: 470-8.

2.Ghasemi N, Razavi S, Salehi H. Improvement of myelin ultra structure after transplantation of human adipose tissue-derived stem cell in rat model of MS. Journal of Isfahan Medical School 2016; 33: 366.

3.Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998; 6;282: 1145-7.

4.Loh YH, Zhang W, Chen X, George J, Ng HH. Jmjd1a and Jmjd2c histone H3 Lys 9demethylases regulate self-renewal in embryonic stem cells.Genes Dev 2007; 21: 2545-57.

5.Scholer HR, The potential of stem cells: An Inventory. In Nikolaus Knoepffler, Dagmar Schipanski, and Stefan Lorenz Sorger. Human biotechnology as social challenge. Ashgate Publishing 2007; p.28.

6.Sen A, Lea-Currie Y. R, Sujkowska D. Adipogenic potential of human adipose derived stromal cells from multiple donors is heterogeneous. J Cell Biochem 2010; 81: 312-9.

7.Ghasemi N, Razavi S. Transdifferentiation potential of adipose-derived stem cells into neural lineage and their application. Journal of Histology & Histopathology 2014; 1: 12.

8.Ghasemi N, Hashemi beni B, Zarei R, Valiani A and Esfandiari E. Co Expression of CD14/45 and CD3/19 Markers is Unique Signature for Identification of Differentiated Chondrocytes from hADSC. J Cytol Histol 2016, 7: 403.

9.Higuera-Ciapara I, Felix-Valenzuela L, Goycoolea FM. Astaxanthin: A review of its chemistry and applications. Crit. Rev. Food Sci. Nutr 2006, 46: 185–196.

10.Ranga Rao A, Raghunath Reddy RL, Baskaran V, Sarada R, Ravishankar GA. Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model. J. Agric. Food Chem 2010; 58: 8553–8559.

11.Ranga Rao A, Sarada R, Baskaran V, Ravishankar GA. Identification of carotenoids from green alga Haematococcus pluvialis by HPLC and LC-MS (APCI) and their antioxidant properties. J. Microbiol. Biotechnol 2009; 19: 1333–1341.

12.Lorenz RT. A Technical Review of Haematococcus Algae; NatuRose™ Technical Bulletin #060; Cyanotech Corporation. Kailua-Kona, HI, USA 1999; pp. 1–12.

13.EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the scientific panel on additives and products or substances used in animal feed on the request from the European commission on the safety of use of colouring agents in animal human nutrition. EFSA J 2005; 291: 1–40.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

14.Chen X, Chen R, Guo Z, Li C, Li P. The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with ß-cyclodextrin. Food Chem 2007; 101: 1580–1584.
15.Shen H, Kuo CC, Chou J, et al. Astaxanthin reduces ischemic brain injury in adult rats. FASEB J 2009; 23: 1958–1968.
16. Yamagishi R, Aihara M. Neuroprotective effect of astaxanthin against rat retinal ganglion cell death under various stresses that induce apoptosis and necrosis. Mol. Vis 2014; 20: 1796–1805.
17.Zhang XS, Zhang X, Wu Q, et al. Astaxanthin offers neuroprotection and reduces neuroinflammation in experimental subarachnoid hemorrhage. J. Surg. Res 2014;192: 206–213.
18.Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WE. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: a neuroprotective role of inflammation? J Exp Med. 1999. 189: 865-70.
19.Angelucci F, Brene S, Mathe AA. BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models. Mol Psychiatry. 2005. 10: p. 345-52.
20.Sendtner M, Holtmann B, Kolbeck R, Thoenen H, Barde YA. Brain-derived neurotrophic factor factor prevents the death of motoneurons in newborn rats after nerve section. Nature.1992. 6406: 757-9.
21.Blesch A, Tuszynski MH. Cellular GDNF delivery promotes growth of motor and dorsal column sensory axons after partial and complete spinal cord transections and induces remyelination. J Comp Neurol.2003. 467:403-17.
22. Razavi S, Jahromi M, Amirpour N and Khosravizadeh Z. Effect of sertraline on proliferation and neurogenic differentiation of human adipose-derived stem cells. Adv Biomed Res 2014; 3:97.
23.Kim JH, Nam SW, Kim BW, et al. Astaxanthin improves stem cell potency via an increase in the proliferation of neural progenitor cells. International journal of molecular sciences 2010; 11: 5109-19.
24.Haddad-Mashadrizeh A, Bahrami AR, Matin MM, Edalatmanesh MA, Zomorodipour A, Fallah A, Gardaneh M, Kia NA, Sanjarmoosavi N. Evidence for crossing the blood barrier of adult rat brain by human adipose-derived mesenchymal stromal cells during a 6-month period of post-transplantation. Cytotherapy 2013; 15: 951-60.
25.Ying CJ, Zhang F, Zhou XY, et al. Anti-inflammatory Effect of Astaxanthin on the Sickness Behavior Induced by Diabetes Mellitus. Cell. Mol. Neurobiol 2015; doi:10.1007/s10571-015-0197-3.
26.Kim JH, Nam SW, Kim BW, Choi W, Lee JH, Kim WJ, et al. Astaxanthin improves stem cell potency via an increase in the proliferation of neural progenitor cells. International journal of molecular sciences 2010;11:5109-19.
27.Jang HY, Ji SJ, Kim YH, Lee HY, Shin JS, Cheong HT, et al. Antioxidative Effects of Astaxanthin against Nitric Oxide-Induced Oxidative Stress on Cell Viability and Gene Expression in Bovine Oviduct Epithelial Cell and the Developmental Competence of Bovine IVM/IVF Embryos. Reproduction in domestic animals 2010;45:967-74.
28.Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, Pell CL, Johnstone BH, Considine RV and March KL. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. Circulation 2004; 109: 1292-8.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]

29. Ghasemi N. Therapeutic effects of adipose derived mesenchymal stem cells on remyelination process in inflammatory demyelinating diseases. Journal of Histology & Histopathology 2015; 2: 8.
30.Kim JH, Nam SW, Kim BW, Kim WJ, Choi YH. Astaxanthin improves the proliferative capacity as well as the osteogenic and adipogenic differentiation potential in neural stem cells. Food and Chemical Toxicology 2010; 48: 1741-5.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-07-25]

[DOI: 10.22102/22.5.84]