ORIGINAL ARTICLE

Protective Effects of Hemin on Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Survival and Apoptosis under In Vitro Oxidative Stress

Yeganeh Shahi[1],
Aghil Esmaeili-Bandboni[2,3],
Marjan Ghorbani-Anarkooli[4],
Mohammadreza Mobayen[5],
Arash Zaminy[6],
Mehrdad Asgari[7,4]

[1] MSc in Anatomical Sciences, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[2] Assistant Professor, Medical Biotechnology Research Center, School of Paramedical Sciences, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Medical Biotechnology, School of Paramedical Sciences, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[4] Assistant Professor of Anatomical Sciences, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[5] Associate Professor of Burn Surgery, Burn and Regenerative Medicine Research Center, Poursina Hospital, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[6] Associate Professor of Anatomical Sciences, Burn and Regenerative Medicine Research Center, Poursina Hospital, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[7] Associate Professor of Anatomical Sciences, Neurosciences Research Center, Poursina Hospital, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

(Received February 7, 2026; Accepted June 1, 2026)

Abstract

Background and purpose: Oxidative stress is a major limiting factor affecting the survival of mesenchymal stem cells following transplantation. Activation of the heme oxygenase-1 (HMOX1) pathway is recognized as a key cytoprotective mechanism against oxidative damage. This study aimed to investigate the protective and anti-apoptotic effects of Hemin, a potent inducer of HMOX1, on human adipose-derived mesenchymal stem cells (hADSCs) exposed to hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidative stress.

Materials and methods: hADSCs were isolated from human adipose tissue and characterized according to established mesenchymal stem cell markers. Cells were pretreated with non-cytotoxic concentrations of Hemin (10, 20, and 25 µM) and subsequently exposed to 300 µM H_2O_2, corresponding to the determined IC_{50} value, for 24, 48, and 72 hours. Cell viability was assessed using the MTT assay, while apoptotic and morphological changes were evaluated using acridine orange/propidium iodide (AO/PI) and DAPI staining. The expression level of the HMOX1 gene was quantified using real-time RT-PCR.

Results: The MTT assay revealed that the IC_{50} of H_2O_2 in hADSCs was 300 µM, whereas Hemin concentrations above 25 µM exhibited cytotoxic effects. Pretreatment with Hemin at 10, 20, and 25 µM significantly enhanced cell survival and attenuated H_2O_2-induced cytotoxicity at all evaluated time points. DAPI staining demonstrated a marked reduction in apoptotic cells, and AO/PI staining indicated improved cellular morphology and a decreased proportion of dead cells, particularly in the groups treated with 20 and 25 µM Hemin. The most pronounced protective effects were observed at the concentration of 25 µM after 48 and 72 hours. In addition, HMOX1 gene expression was significantly upregulated in Hemin-treated groups compared with the group exposed to oxidative stress alone.

Conclusion: Hemin enhances hADSC survival and reduces oxidative stress-induced apoptosis through the upregulation of HMOX1. These findings suggest that Hemin may serve as a promising cytoprotective agent for enhancing the efficacy of stem cell-based therapies.

Keywords: Heme Oxygenase-1 (HMOX1); Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (hADSCs); Oxidative Stress; Cytoprotection; Apoptosis.

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (257): 3-15 (Persian).

Corresponding Author: Mehrdad Asgari - Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
(E-mail: mehrdad_vhf@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و ششم شماره ۲۵۷ خرداد سال ۱۴۰۵ (۱۵-۳)

بررسی اثرات محافظتی هِمین بر بقا و آپوپتوز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی در شرایط تنش اکسیداتیو آزمایشگاهی

یگانه شاهی[۱]
عقیل اسمعیلی بندبونی[۲،۳]
مرجان قربانی انارکولی[۴]
محمدرضا مبین[۵]
آرش زمینی[۶]
مهرداد عسگری[۴،۷]

چکیده

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو بقای سلول‌های بنیادی مزانشیمی را پس از پیوند محدود می‌کند. فعال‌سازی مسیر هم‌اکسیژناز-۱ (HMOX1) Heme Oxygenase-1 یک مکانیسم کلیدی محافظتی است. این مطالعه با هدف، ارزیابی اثر محافظتی هِمین (Hemin) به‌عنوان القاگر HMOX1 بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی (Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells; hADSCs) در مواجهه با استرس اکسیداتیو ناشی از هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، سلول‌های hADSC جدا و شناسایی شدند. سلول‌ها با غلظت‌های غیرسمی هِمین (۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومولار) پیش‌تیمار شده و سپس با ۳۰۰ میکرومولار (IC_{50} H_2O_2) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. بقای سلولی با آزمون MTT ارزیابی شد. تغییرات آپوپتوتیک با رنگ‌آمیزی DAPI و آکریدین اورنج/پروپیدیوم یدید (AO/PI) بررسی گردید. بیان ژن *HMOX1* با روش Real-time RT-PCR (Real-time polymerase chain reaction) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: IC_{50} H_2O_2 برابر ۳۰۰ میکرومولار بود. غلظت‌های بالاتر از ۲۵ میکرومولار هِمین سمی بودند. پیش‌تیمار با هِمین (۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومولار) بقای سلولی را افزایش داده و سمیت H_2O_2 را کاهش داد. DAPI کاهش آپوپتوز و AO/PI بهبود مورفولوژی و کاهش سلول‌های مرده را نشان داد (به‌ویژه در ۲۰ و ۲۵ میکرومولار). بیش‌ترین اثر محافظتی در ۲۵ میکرومولار در ۴۸ و ۷۲ ساعت دیده شد. بیان *HMOX1* در گروه‌های تیمار شده با هِمین به‌طور معناداری بیش‌تر از گروه استرس اکسیداتیو بود.

استنتاج: هِمین با القای بیان *HMOX1* می‌تواند بقای hADSCs را افزایش داده و آپوپتوز القا شده توسط استرس اکسیداتیو را کاهش دهد. این نتایج، هِمین را به‌عنوان یک عامل محافظت کننده سلولی بالقوه برای بهبود کارایی درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی معرفی می‌کند.

واژه های کلیدی: هِمین (Hemin)، هم‌اکسیژناز-۱ (Heme oxygenase-1; HMOX1)، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی (Human adipose-derived mesenchymal stem cells; hADSCs)، استرس اکسیداتیو، محافظت سلولی، آپوپتوز

مولف مسئول: مهرداد عسگری- گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران **E-mail:** mehrdad_vhf@yahoo.com
۱. کارشناسی ارشد علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۲. استادیار، مرکز تحقیقات ب زیست فناوری پزشکی، دانشکده علوم پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۳. استادیار، گروه زیست فناوری پزشکی ، دانشکده علوم پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۴. استادیار علوم تشریحی، گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۵. دانشیار جراحی سوختگی، مرکز تحقیقات پزشکی سوختگی و ترمیمی، بیمارستان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۶. دانشیار علوم تشریحی، مرکز تحقیقات پزشکی سوختگی و ترمیمی، بیمارستان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۷. استادیار علوم تشریحی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، بیمارستان پورسینا، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۴/۱۱/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۴/۱۱/۲۱ تاریخ تصویب : ۱۴۰۵/۳/۳/۱۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

مقدمه

به دلیل ضرورت یافتن درمان‌های نوین و جایگزین برای طیف وسیعی از بیماری‌ها، پژوهشگران و متخصصان پزشکی تمرکز خود را بر پزشکی بازساختی و درمان‌های سلولی معطوف کرده‌اند. در این میان، سلول‌های بنیادی به‌دلیل توان بالقوه خود در ترمیم و بازسازی بافت‌ها، مورد توجه گسترده پژوهش‌های پایه و بالینی قرار گرفته‌اند(۱).

از آن‌جا که بافت چربی به راحتی در دسترس است، مقدار فراوانی از آن در بدن وجود دارد و معمولاً در طی اعمال جراحی زیبایی مانند لیپوساکشن برداشت می‌شود، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی (Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells; hADSCs) به‌عنوان یکی از مناسب‌ترین و در دسترس‌ترین منابع سلولی برای کاربردهای مهندسی بافت و درمان‌های بازساختی شناخته می‌شوند(۲).

علیرغم پتانسیل بالای این سلول‌ها در درمان‌های ترمیمی، کاهش بقای سلولی پس از پیوند یا کشت در شرایط آزمایشگاهی یکی از چالش‌های اساسی در کاربرد بالینی آن‌ها محسوب می‌شود. شرایط نامساعدی نظیر کم اکسیژنی، فقر سرم، التهاب و به‌ویژه استرس اکسیداتیو، همچنین درمان‌هایی مانند شیمی درمانی و پرتو درمانی، می‌توانند منجر به کاهش بقا و کارآیی سلول‌های بنیادی شوند(۳). در نتیجه، افزایش مقاومت سلول‌های بنیادی در برابر تنش‌های اکسیداتیو و محیطی، یک پیش‌نیاز اساسی برای بهبود اثربخشی درمان‌های سلولی به شمار می‌رود. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، استراتژی‌های مختلف پیش‌تیماری توسعه یافته‌اند که شامل اصلاح ژنتیکی سلول‌های بنیادی، تیمار با هورمون‌های رشد و مواد محافظ سلولی، و کشت سلول‌ها در داربست‌های زیستی خاص است(۴). پیش‌شرطی‌سازی فارماکولوژیک با هدف فعال‌سازی مسیرهای محافظتی درون سلولی، یکی از روش‌های ساده و قابل انتقال به بالین محسوب می‌شود.

همین (Hemin) شکل اکسید شده هم و یک ترکیب پورفیرینی حاوی آهن است که موجب افزایش بیان آنزیم هم‌اکسیژناز-۱ (Heme Oxygenase-1; HO-1) می‌شود. آنزیم HO نقش کلیدی در کاتابولیسم هم داشته و مسئول تولید بیلی‌وردین، آهن آزاد و مونوکسید کربن است. از میان ایزوآنزیم‌های HO، نوع القایی آن یعنی HO-1 در پاسخ به آسیب‌های بافتی افزایش می‌یابد و دارای اثرات محافظتیِ سلولی مهمی است(۵).

همین دارویی است که عمدتاً برای درمان حملات حاد پورفیری استفاده می‌شود و در تحقیقات پیش‌بالینی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. مطالعات متعدد غیر بالینی نشان داده‌اند که همین در شرایط التهابی مختلف مانند بیماری التهابی روده، نارسایی کلیه، سپسیس، آرتریت، پانکراتیت، انفارکتوس میوکارد و التهاب مجاری تنفسی اثر ضدالتهابی قوی دارد(۵). علاوه بر این، اثرات محافظتی همین در مدل‌های پیش‌بالینی استرس اکسیداتیو نیز گزارش شده است، اما تاکنون اثر محافظتی آن بر hADSCs به‌طور مشخص مورد بررسی قرار نگرفته بود.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که HO-1 با مهار استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز، نقش محافظتی قابل توجهی در شرایط پاتولوژیک مختلف از جمله کم اکسیژنی و آسیب‌های بافتی ایفا می‌کند(۶، ۷). با این حال، شواهد محدودی در خصوص نقش القای HO-1 توسط همین در محافظت از hADSC در شرایط استرس اکسیداتیو آزمایشگاهی وجود دارد. بنابراین، بررسی اثرات محافظتی همین به‌عنوان القاگر HO-1 بر hADSC در مواجهه با استرس اکسیداتیو می‌تواند خلأ موجود در این حوزه را تا حدی برطرف کند.

در این پژوهش، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات محافظتی همین در برابر استرس اکسیداتیو القا شده توسط پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در hADSCs و تبیین مکانیسم‌های زمینه‌ای آن از طریق تعدیل بیان ژن *HMOX1* است. نتایج این مطالعه می‌تواند زمینه‌ساز توسعه راهبردهای

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

نوین پیش‌شرطی‌سازی این سلول‌ها به‌منظور افزایش بقا و کارآیی آن‌ها در شرایط نامساعد محیطی باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)، حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum;FBS) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین/استرپتومایسین (Penicillin 100 U/mL و Streptomycin 100 µg/mL) مورد استفاده در کشت سلولی از شرکت ایده زیست نوترکیب (تهران، ایران) تهیه گردید. محیط‌های تمایزی آدیپوژنیک و استئوژنیک از شرکت بن‌یاخته (تهران، ایران) خریداری شدند. همچنین استخراج RNA کل با استفاده از کیت تجاری RNX-Plus (سیناژن، تهران، ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. همچنین، کلیه مراحل این پژوهش با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان انجام شده است (IR.GUMS.REC.1401.365).

جداسازی و کشت سلول های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی انسانی

سلول‌های hADSC پس از اخذ رضایت آگاهانه و طی عمل لیپوساکشن جمع‌آوری شدند. بافت چربی پس از شستشو با PBS به قطعات کوچک تقسیم شد. سپس به ازای هر گرم بافت، ۱/۵ mg کلاژناز-۱ اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۴۵–۶۰ دقیقه در ۳۷ °C انکوبه شدند. پس از هضم، سوسپانسیون سلولی به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۸۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. رسوب سلولی در محیط DMEM کامل (۱۰ درصد FBS و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک) به صورت سوسپانسیون (Suspension) آماده‌سازی شد و به فلاسک‌های کشت منتقل گردید. سلول‌ها در شرایط ۳۷ °C، ۵ درصد CO_2 و ۹۵ درصد رطوبت کشت داده شدند. محیط کشت هر ۳ روز تعویض شد و سلول‌های پاساژ ۴ برای آزمایش‌ها استفاده شدند.

تمایز چربی‌زایی و استخوان‌زایی سلول‌های hADSCs

به‌منظور بررسی توان تمایزی hADSCs، سلول‌های پاساژ ۴ با تراکم 10^5 سلول در هر چاهک در پلیت‌های ۲۴ خانه کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت در معرض محیط‌های تمایزی قرار گرفتند. محیط آدیپوژنیک شامل دگزامتازون (1µM)، (10 mM) β-glycerophosphate و اسید آسکوربیک (50 µg/mL) و محیط استئوژنیک شامل دگزامتازون (6×10^{-8} M)، انسولین (10µg/mL)، ایندومتاسین (60µM) و ۳ (0.5mM) isobutyl-1-methylxanthine بود. محیط‌های تمایزی هر ۳ روز یک‌بار تعویض شدند و سلول‌های گروه کنترل در محیط DMEMحاوی ۱۰ درصد FBS نگهداری شدند. پس از ۲۱ روز، تمایز آدیپوژنیک و استئوژنیک به ترتیب با رنگ‌آمیزی Oil Red O و Alizarin Red S ارزیابی و با میکروسکوپ نوری بررسی گردید.

مشخصه‌ی ایمنی hADSC ها با فلوسیتومتری

سلول‌ها در پاساژ ۴ برداشت و ۱۰/۰۰۰ سلول شمارش شدند. سلول‌ها با ۰/۵ درصد آلبومین سرم گاوی (Bovine Serum Albumin; BSA) بلوکه شده و سپس با ۴ درصد پارافرمالدهید فیکس شدند. نفوذپذیری با ۰/۵ درصد Triton X-100 انجام شد. سلول‌ها با آنتی‌بادی‌های FITC/PE به مدت ۱/۵ ساعت انکوبه شدند. مارکرهای CD73، CD90 و CD105 مثبت، و CD34 و CD45 منفی بررسی شدند.

بررسی اثر هِمین بر زنده‌مانی hADSCs

برای ارزیابی تأثیر هِمین بر بقای سلول‌ها، از آزمون 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) استفاده شد. hADSCs با تراکم 1×10^4 سلول در هر چاهک در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

پلیت ۹۶ خانه کشت داده شده و سپس با غلظت‌های مختلف همین (۱۰، ۲۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. پس از آن، محلول MTT با غلظت ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به سلول‌ها افزوده شد و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از تشکیل کریستال‌های فورمازان، محلول MTT حذف و کریستال‌ها با ایزوپروپانول اسیدی ۱۰۰ درصد حل شدند. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه Synergy™ (BioTek®, USA) LX اندازه‌گیری شد. نتایج به‌صورت درصد بقای سلولی نسبت به گروه کنترل بیان گردید. تمامی آزمایش‌ها حداقل در سه تکرار مستقل انجام شد.

آپوپتوز القا شده با H_2O_2 در hADSC

به‌منظور ایجاد مدل استرس اکسیداتیو، hADSCs با غلظت‌های مختلف H_2O_2 شامل ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۷۰۰، ۸۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس با استفاده از آزمون MTT منحنی دوز پاسخ ترسیم و غلظت نیمه بیشینه مهار رشد (IC_{50}) برای H_2O_2 تعیین شد. این غلظت در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی اثرات محافظتی سلولی همین در برابر استرس اکسیداتیو القا شده توسط H_2O_2

آزمون زنده‌مانی سلولی

اثر محافظتی همین با استفاده از آزمون MTT در شش گروه آزمایشی بررسی شد. سلول‌ها در پلیت ۹۶ خانه در حجم نهایی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد پنی‌سیلین/استرپتومایسین کشت داده شدند. محلول‌های استوک همین و H_2O_2 به محیط کشت اضافه شدند به‌گونه‌ای که غلظت نهایی مورد نظر در حجم نهایی ۱۰۰ میکرولیتر هر چاهک حاصل گردید.

گروه‌های آزمایشی، گروه کنترل منفی، محیط کشت بدون Hemin و H_2O_2، گروه حلال، محیط کشت حاوی ۰,۲ درصد DMSO، کنترل مثبت، 300 μM H_2O_2، Hemin 10 μM + 300 μM H_2O_2، Hemin 20 μM + 300μM H_2O_2 و Hemin 25 μM + 300μM H_2O_2، بود. آزمایش‌ها در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و در سه تکرار مستقل انجام شدند.

رنگ‌آمیزی آکریدین اورنج/پروپیدیوم یدید (Acridine Orange/Propidium Iodide; AO/PI)

برای ارزیابی آپوپتوز از رنگ‌آمیزی AO/PI استفاده شد. AO سلول‌های زنده را به رنگ سبز و PI سلول‌های دارای غشای آسیب دیده را به رنگ قرمز نشان می‌دهد. پس از تیمار در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، سلول‌ها فیکس شده و با محلول AO/PI (AO: 5µg/mL، PI:0.5 µg/mL) رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ فلورسانس بررسی گردیدند. درصد سلول‌های آپوپتوتیک از نسبت تعداد سلول‌های آپوپتوتیک به کل سلول‌های شمارش‌شده محاسبه شد.

بررسی بیان ژن با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با رونویسی معکوس کمی (Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction; qRT-PCR)

استخراج RNA

استخراج RNA کل با استفاده از کیت RNX-Plus (سیناژن، تهران، ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کیفیت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه NanoDrop ارزیابی گردید(۸).

پرایمرها

پرایمرهای اختصاصی ژن *HMOX1* و *GAPDH* (به‌عنوان ژن مرجع) با استفاده از نرم‌افزار Primer-BLAST طراحی و توسط شرکت CinnaGen (تهران، ایران) سنتز شدند. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱، آمده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

جدول شماره ۱: توالی پرایمرها

Primer name	Sequence 5' - 3'	Tm (°c)
GAPDH Forward primer	CGTGGAAGGACTCATGACCA	59.39
GAPDH Reverse primer	AGGCAGGGATGATGTTCTGG	59.45
HMOX1 Forward primer	CAACAAAGTGCAAGATTCTGCC	59.34
HMOX1 Reverse primer	AGTGTAAGGACCCATCGGAG	59.79

سنتز cDNA و Real-time PCR

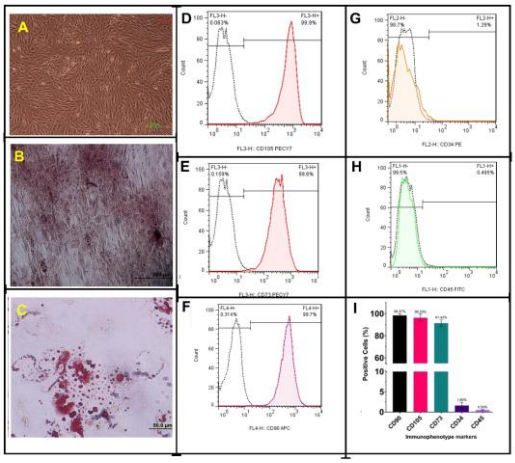
سنتز رشته اول cDNA با استفاده از کیت SinaClon First Strand cDNA Synthesis انجام شد. واکنش Real-time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل، ۲ میکرولیتر cDNA، ۳ میکرولیتر پرایمر، ۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر (DDW) و ۱۰ میکرولیتر محلول RealQ (AMPLIQON, Cat. No.: A325402) Plus 2x Master Mix Green انجام شد. فرآیند تقویت با دستگاه ABI 7300 Real-Time PCR مطابق دستورالعمل کارخانه انجام گرفت. بیان نسبی ژن *HMOX1* نسبت به ژن *GAPDH* نرمال‌سازی شد و داده‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ تحلیل شدند(۹).

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. داده‌های دارای توزیع نرمال با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون Tukey پس از تحلیل (post hoc) مقایسه و بررسی شدند. برای داده‌های غیرپارامتری، از آزمون U من–ویتنی استفاده شد. مقادیر P کم‌تر از ۰/۰۵ نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تعیین هویت hADSCs

پس از سه روز hADSCs در کشت مشاهده شدند و مورفولوژی دوکی و شبه فیبروبلاست آن‌ها با میکروسکوپ نوری معکوس تأیید شد. فلوسیتومتری پاساژ چهارم بیان بالای مارکرهای مزانشیمی (CD105، CD90 و CD73) و عدم بیان مارکرهای خونساز (CD34 و CD45) را نشان داد و خلوص سلول‌ها را تأیید کرد. پتانسیل چند توانی hADSCs نیز با تمایز آن‌ها به آدیپوسیت‌ها و استئوبلاست‌ها در محیط‌های آدیپوژنیک و استئوژنیک تأیید شد، به طوری که قطرات چربی و کلونی‌های استخوانی به ترتیب با رنگ‌آمیزی آلیزارین و اویل رد مشاهده شدند (تصویر شماره ۱).

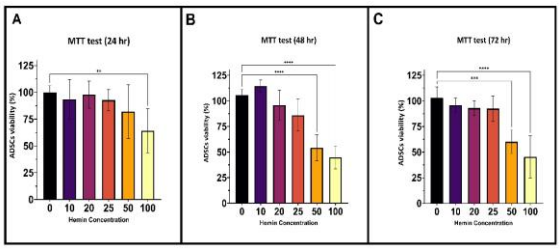


تصویر شماره ۱: ویژگی‌های سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی انسان (hADSCs)، A: در پاساژ چهارم سلول‌های hADSCs، ظاهر سلول‌ها مشابه فیبروبلاست‌ها به شکل دوکی، کشیده و پهن مشاهده گردید. B: تمایز استئوژنیک hADSCs که با رنگ‌آمیزی Alizarin Red نشان داده شده است، C: تمایز آدیپوژنیک hADSCs که با رنگ‌آمیزی Oil Red O مشخص شده است. D-F: تحلیل فلوسایتومتری بیان مارکرهای سطحی بر روی hADSCs ، I: درصد میانگین مارکرهای سطحی، با انحراف معیار± میانگین از سه آزمایش مستقل (n = ۳) نشان داده شده است.

اثر سمیت سلولی هِمین بر hADSCs

با استفاده از آزمون MTT، اثر هِمین بر سمیت سلولی hADSCs بررسی شد. پیش‌تیمار hADSCs با ۱۰۰ میکرومول هِمین به مدت ۲۴ ساعت، بقای سلولی را به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل کاهش داد (P <۰/۰۰۴). هم‌چنین پیش‌تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول هِمین به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت، کاهش قابل توجهی در بقای سلولی ایجاد کرد (P <۰/۰۰۰۱). در مقابل، پیش‌تیمار با ۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومول هِمین در همان بازه‌های زمانی تأثیر معنی‌داری بر بقای سلول‌ها نداشت. بنابراین، آزمایش‌های بعدی با دوزهای غیرسمی هِمین (۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومول) انجام شد (تصویر شماره ۲).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]



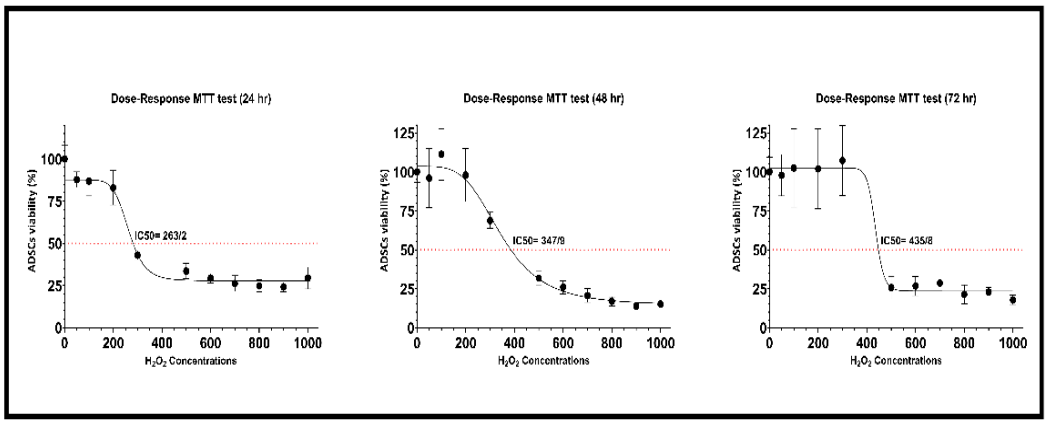
تصویر شماره ۲: اثر همین بر زنده‌مانی سلول‌های hADSCs با استفاده از آزمونMTT، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف همین به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. داده‌ها به‌صورت انحراف معیار± میانگین ارائه شده و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) مورد مقایسه قرار گرفتند، ۰/۰۱> P**، ۰/۰۰۱> P***

اثر سمیت سلولی H_2O_2 بر hADSCs

نتایج آزمون MTT نشان داد که H_2O_2 اثرات سمیت سلولی بر hADSCs دارد. مقدار $IC50\ H_2O_2$ بر hADSCs در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۲۵/۹۴ ± ۲۶۳/۲، ۳۵/۶۷ ± ۳۴۷/۹ و ۲۵/۶۵ ± ۴۳۵/۸ میکرومول بود. بر این اساس، غلظت ۳۰۰ میکرومول H_2O_2 به عنوان غلظت سمی برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد (تصویر شماره ۳).

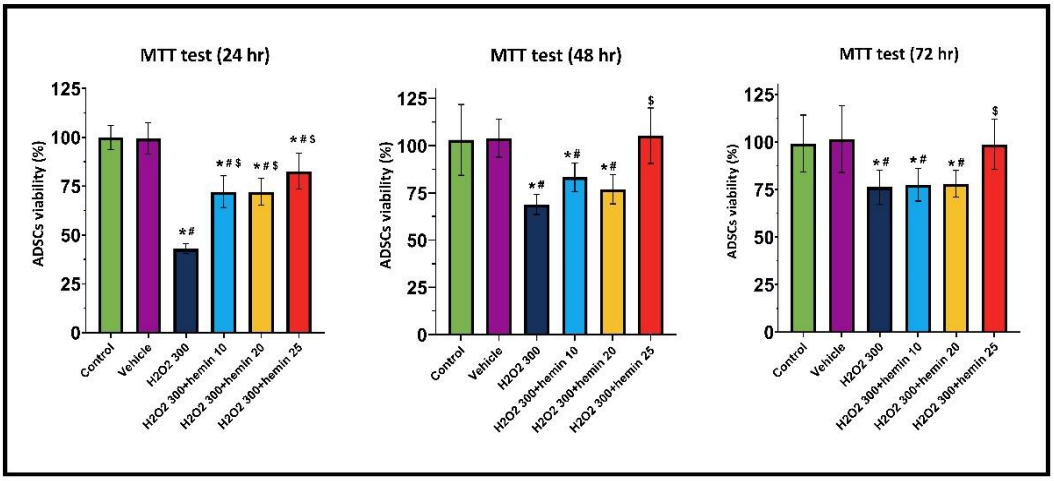
اثر محافظتی همین در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از H_2O_2 آزمون بقای سلولی

بر اساس نتایج آزمون MTT، ۳۰۰ میکرومولار H_2O_2 باعث کاهش معنی‌دار بقای hADSCs در ۲۴ و ۴۸ ساعت (۰/۰۰۰۱> P) و ۷۲ ساعت (۰/۰۱= P) نسبت به گروه کنترل و دارونما شد. همچنین، تیمار ترکیبی Hemin + H_2O_2 (۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومولار همین همراه با ۳۰۰ میکرومولار H_2O_2) در ۲۴ ساعت بقای سلولی را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و دارونما کاهش داد (همه ۰/۰۵> P)، اما نسبت به گروه سمی H_2O_2، موجب افزایش معنی‌دار بقای سلولی شد (۰/۰۰۰۱> P). هم‌تیماری سلول‌ها با ۱۰ و ۲۰ میکرومولار همین همراه با H_2O_2 در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت هم‌چنان کاهش معنی‌دار بقای سلولی را نسبت به گروه کنترل و دارونما نشان داد (۰/۰۵> P) و در همان بازه زمانی اثر محافظتی قابل توجهی مشاهده نشد. در مقابل، پیش‌تیمار با ۲۵ میکرومولار همین در ۴۸ ساعت (۰/۰۰۰۱> P) و ۷۲ ساعت (۰/۰۱= P). به‌طور معنی‌داری اثرات سمی H_2O_2 را کاهش داده و بقای سلولی را افزایش داد، به‌گونه‌ای که میزان زنده‌مانی سلول‌ها در این گروه به سطح نزدیک به گروه کنترل و دارونما رسید و اختلاف معنی‌داری با آن‌ها مشاهده نشد. این یافته‌ها نشان دهنده اثر محافظتی همین در دوز ۲۵ میکرومولار در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت بود (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۳: مقدار IC_{50} در سلول‌های hADSCs پس از تیمار با دوزهای مختلف H_2O_2 به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، داده‌ها به‌صورت انحراف معیار± میانگین از سه آزمایش مستقل (n=3) ارائه شده‌اند

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

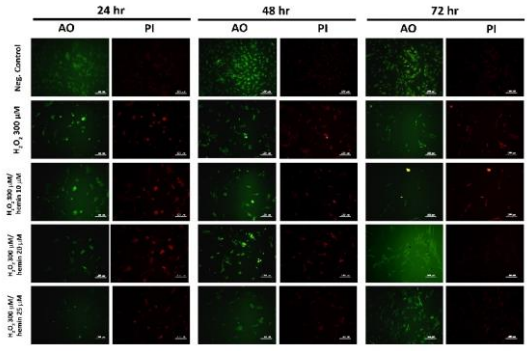


تصویر شماره ٤: ارزیابی اثر محافظتی هِمین در مواجهه با H_2O_2 در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از آزمون MTT، داده‌ها به‌صورت انحراف معیار± میانگین ارائه شده‌اند. نمادها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری (**P** <۰/۰۵) در مقایسه با گروه کنترل (*)، گروه حلال (#) و گروه ۳۰۰ میکرومولار ($) H_2O_2 می‌باشند.

تحلیل رنگ‌آمیزی AO/PI

داده‌های رنگ‌آمیزی AO/PI نشان داد که ۳۰۰ میکرومولار H_2O_2 آپوپتوز را در hADSCs القا کرده و تعداد سلول‌ها با گذر زمان کاهش یافت. تصویر شماره ۵، نیز تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های آپوپتوتیک از جمله جمع‌شدگی، تراکم کروماتین، از دست رفتن شکل سلول و غیرعادی شدن غشای سلولی را در مقایسه با سلول‌های کنترل نشان داد. در سلول‌های تیمار شده با هِمین و H_2O_2، بقای سلولی و مورفولوژی سلول بسته به زمان و غلظت متفاوت بود. در ۲۴ ساعت، دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومولار هِمین تغییر محسوسی در تعداد یا شکل سلول‌ها نسبت به گروه H_2O_2 ایجاد نکردند.

پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت، ۱۰ میکرومولار هِمین قادر به بهبود بقای سلول‌ها نبود، در حالی که دوزهای ۲۰ و ۲۵ میکرومولار باعث کاهش سلول‌های مرده و افزایش تعداد سلول‌ها نسبت به گروه سمی H_2O_2 شدند. مورفولوژی سلول‌ها در دوزهای ۲۰ و ۲۵ میکرومولار هِمین در ۴۸ و ۷۲ ساعت بهبود یافت و بیش‌ترین تعداد سلول‌های زنده در ۲۵ میکرومولار هِمین پس از ۷۲ ساعت مشاهده شد.



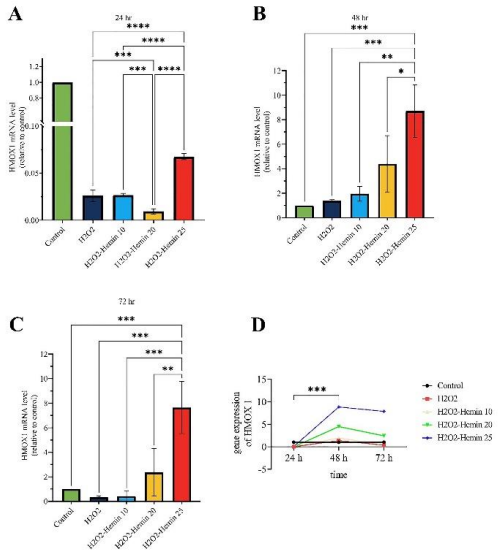
تصویر شماره ٥: بررسی میزان آپوپتوز در سلول‌های **hADSCs** با استفاده از رنگ‌آمیزی AO/PI، سلول‌ها با دوزهای ۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومولار هِمین پس از مواجهه با دوز سمی H_2O_2 به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تیمار شدند. در این رنگ‌آمیزی، سلول‌های زنده به رنگ سبز و سلول‌های مرده به رنگ قرمز نمایش داده شدند.

افزایش معنی‌دار بیان ژن HMOX1 توسط هِمین

تصویر شماره ۶، بیان ژن *HMOX1* را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که میانگین بیان ژن *HMOX1* در برخی گروه‌ها در زمان‌های مشخص نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری دارد. اضافه شدن H_2O_2 پس از ۲۴ ساعت باعث کاهش معنی‌دار بیان *HMOX1* شد (P <۰/۰۰۰۱)، در حالی که تیمار با ۲۵ میکرومولار هِمین پس از همان مدت، افزایش معنی‌داری در بیان ژن نسبت به گروه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

H_2O_2 ایجاد کرد (P <۰/۰۰۰۱). پس از ۴۸ ساعت، تمام گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف همین افزایش بیان ژن *HMOX1* را نسبت به کنترل نشان دادند و این افزایش در گروه ۲۵ میکرومولار همین به طور معنی‌داری بالاتر بود (۱/۲۳+ ۸/۸۵= fold change P =۰/۰۰۰۵). همچنین، پس از ۷۲ ساعت، تیمار با ۲۵ میکرومولار همین باز هم افزایش معنی‌دار بیان ژن *HMOX1* نسبت به کنترل را نشان داد(P=۰/۰۰۰۷، fold change =۷/۸۶ ±۱/۲۳).



تصویر شماره ٦: بیان نسبی ژن *HMOX1*، محور Y تغییرات نسبی با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ را نشان می‌دهد. سطوح *HMOX1* در اثر درمان با سه غلظت همین پس از ۲۴ ساعت (a)، ۴۸ ساعت (b) و ۷۲ ساعت (c) افزایش می‌یابد، تأثیر مدت زمان درمان با همین بر بیان ژن *HMOX1* نشان داده شده است. P <۰/۰۵، P <۰/۰۱*، P <۰/۰۰۱ ***

بحث

این مطالعه تأثیر همین بر بیان ژن *HMOX1* را به عنوان یک رویکرد محافظتی برای hADSCs در برابر استرس اکسیداتیو بررسی کرده است. یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تیمار با همین به طور معنی‌داری بقای سلول‌ها را افزایش داده و آپوپتوز آن‌ها را در مواجهه با H_2O_2 کاهش می‌دهد، که این موضوع پتانسیل همین را به عنوان یک مداخله درمانی برای محافظت از hADSCs در برابر استرس اکسیداتیو برجسته می‌کند. علاوه بر این، شواهد نشان می‌دهد که اثرات محافظتی همین از طریق افزایش بیان HO-1، یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی کلیدی، اعمال می‌شود که حفاظت سلولی در برابر استرس اکسیداتیو را تقویت می‌کند.

استفاده از سلول‌های بنیادی در پزشکی بازساختی، چشم‌انداز امیدوار کننده‌ای برای درمان بیماری‌های مختلف انسانی ارائه می‌دهد. با این حال، موانع و چالش‌هایی در کاربرد بالینی این رویکرد وجود دارد؛ به‌طور مثال، مطالعات نشان داده‌اند که در ساعات اولیه پس از پیوند، بخش قابل توجهی از سلول‌های پیوندی از بین می‌روند(۱۰). آپوپتوز سلولی می‌تواند توسط محرک‌های داخلی و خارجی از جمله پاسخ‌های التهابی، کمبود مواد مغذی، کاهش اکسیژن و گونه‌های فعال اکسیژن مانند H_2O_2 القا شود(۱۱). برای غلبه بر این محدودیت‌ها، استراتژی‌های مختلف پیش‌تیماری توسعه یافته‌اند که شامل اصلاح ژنتیکی سلول‌های بنیادی، تیمار با هورمون‌های رشد و مواد محافظ سلولی، و کشت سلول‌ها در داربست‌های زیستی خاص است(۴).

تایج آزمون MTT نشان داد که غلظت‌های کم‌تر از ۵۰ میکرومولار همین اثر محافظتی سلولی دارند. پیش‌تیمار hADSCs با ۱۰، ۲۰ و ۲۵ میکرومولار همین در برابر ۳۰۰ میکرومولار H_2O_2 موجب افزایش بقای سلول‌ها و تکثیر آن‌ها شد. یافته‌های Deng و همکاران نشان داد که پیش‌تیمار سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان با همین در محدوده ۲۵–۱ میکرومولار، بقای سلول‌ها را افزایش داده و اثرات محافظتی قلبی در مدل انفارکتوس میوکارد ایجاد می‌کند، به‌طوری که قوی‌ترین اثر محافظتی در دوز ۱۰ میکرومولار مشاهده شد. این اثر شامل افزایش بقای سلول، کاهش آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها و افزایش آنژیوژنز بود(۱۲).

به‌منظور بررسی مکانیسم‌های محافظتی همین تحت شرایط استرس اکسیداتیو، سطح بیان mRNA ژن *HO-1*

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

مورد ارزیابی قرار گرفت. بیش‌ترین افزایش بیان *HO-1* در دوز ۲۵ میکرومولار همین مشاهده شد که نشان می‌دهد همین می‌تواند اثرات محافظتی سلولی خود را از طریق القای بیان *HO-1* اعمال کرده و در کاهش استرس اکسیداتیو نقش داشته باشد. مطالعات متعدد حیوانی نشان داده‌اند که HO-1 به‌عنوان آنزیم محدود کننده سرعت در مسیر تجزیه هم، نقش کلیدی در حفاظت سلولی در برابر استرس اکسیداتیو و التهاب ایفا می‌کند(۱۳). عملکرد اصلی *HO-1* شامل کاتالیز تجزیه اکسیداتیو هم به بیلیوردین، مونواکسیدکربن و آهن آزاد است؛ به‌طوری که بیلیوردین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی قادر به حذف رادیکال‌های پروکسیل بوده و مونواکسیدکربن نیز دارای خواص ضدآپوپتوز و ضدالتهابی می‌باشد(۱۴).

مطالعات همچنین نشان داده‌اند که اثرات محافظتی و ضد آپوپتوز همین از طریق فعال‌سازی ژن *HMOX1* اعمال می‌شود(۵). به عنوان مثال، پیش‌تیمار آستروسیت‌ها با همین در شرایط استرس اکسیداتیو در مغز اثر محافظتی دارد. مطالعات دیگر نشان داده‌اند که افزایش بیان *HO-1* توسط همین می‌تواند از آتروفی عضلانی ناشی از سپسیس در موش‌ها جلوگیری کند، از کلستاز حاد ناشی از استرس اکسیداتیو در رت‌ها محافظت کند و آسیب بافت‌های دیگر را کاهش دهد.

مطالعات همچنین نشان داده‌اند که ویژگی‌های سیتوپروتکتیو همین از طریق بیان *HO-1* اعمال می‌شود. برای مثال، پیش‌شرطی‌سازی آستروسیت‌ها با همین با القای ژن *HMOX1* اثر محافظتی سلولی در برابر استرس اکسیداتیو در مغز ایجاد می‌کند(۱۵). Yu و همکاران گزارش کردند که افزایش بیان HO-1 توسط همین، آتروفی عضلانی القا شده توسط سپسیس را در موش‌ها کاهش می‌دهد (۱۶). همچنین مارتین و همکاران نشان دادند که فعال‌سازی *HO-1* به‌واسطه همین، از بروز کلستاز حاد ناشی از استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی محافظت می‌کند(۱۷).

محیط‌های سیتوتوکسیک در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و درون‌تنی (in vivo) موجب القای آپوپتوز در سلول‌های بنیادی پس از پیوند می‌شوند، بنابراین، مهار آپوپتوز می‌تواند راهکاری مناسب برای افزایش اثربخشی سلول درمانی باشد(۱۱). در مطالعه حاضر، ویژگی‌های سلولی مشاهده شده در رنگ‌آمیزی دوگانه AO/PI اثرات محافظتی و مهارکننده آپوپتوز همین را تأیید کردند. در غلظت‌های ۲۰ و ۲۵ میکرومولار، سلول‌های فلورسنت هیچ‌گونه ناهنجاری مورفولوژیک، برجستگی غشایی (membrane blebbing)، تراکم کروماتین یا تغییر رنگ از سبز به قرمز را نشان ندادند که بیانگر عدم وقوع آپوپتوز زودرس است. با این حال، بیش‌ترین درصد سلول‌های زنده در تیمار با ۲۵ میکرومولار همین پس از ۷۲ ساعت مشاهده شد (تصویر شماره ۵).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که اثرات محافظت کننده سلولی و ضدآپوپتوزی همین از طریق فعال‌سازی ژن *HMOX1* اعمال می‌شود. اشماوی و همکاران گزارش کردند که همین با افزایش بیان *HMOX1* در بافت کلیه، تحت شرایط استرس اکسیداتیو دارای اثرات نفروپروتکتیو و ضدآپوپتوزی است(۱۸). بای و همکاران نشان دادند که درمان با همین (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تزریق داخل‌صفاقی) با جلوگیری از مرگ کراتینوسیت‌ها و کاهش نفوذ نوتروفیل‌ها در پوست، از آسیب پوستی القا شده توسط UVB پیشگیری می‌کند(۱۹). عبدالحمید و همکاران دریافتند که تیمار با همین می‌تواند استرس سلولی ناشی از استروژن و پروژسترون را کاهش داده و از طریق تعدیل مسیرهای Nrf2/HO-1 و NF-κB از بروز هیپرپلازی غده پستانی جلوگیری کند(۲۰). همچنین Han و همکاران نشان دادند که همین با افزایش بیان *HO-1*، از آسیب قلبی ناشی از کم اکسیژنی متناوب محافظت می‌کند؛ اثری که از طریق مهار قطعه‌قطعه شدن میتوکندری و مرگ کاردیومیوسیت‌ها اعمال می‌شود(۲۱). بر این اساس، افزایش بیان *HMOX1* توسط همین می‌تواند راهبردی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

امیدبخش برای افزایش مقاومت hADSCs در برابر استرس اکسیداتیو و ارتقای پتانسیل درمانی آن‌ها در کاربردهای پزشکی بازساختی باشد.

یافته‌های این مطالعه پیامدهای بالینی مهمی برای به‌کارگیری hADSCs در پزشکی بازساختی و مهندسی بافت دارد. استرس اکسیداتیو یکی از چالش‌های شایع در طی فرایند پیوند یا جای‌گیری سلول‌های بنیادی در بافت‌های آسیب دیده یا بیمار محسوب می‌شود(۲۲). توانایی محافظت از hADSCs در برابر استرس اکسیداتیو از طریق مداخلات دارویی مانند همین می‌تواند به‌طور قابل توجهی بقای سلولی، جای‌گیری پیوندی (Engraftment) و اثربخشی درمانی آن‌ها را در محیط‌های بالینی بهبود بخشد.

علاوه بر این، درک مکانیسم‌های مولکولی اثرات محافظتی همین بر hADSCs می‌تواند زمینه‌ساز توسعه رویکردهای هدفمند برای ارتقای درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی در طیف وسیعی از بیماری‌ها و آسیب‌ها باشد. به‌طور کلی، اگر چه یافته‌های مطالعه حاضر اثرات محافظت کننده سلولی و ضدآپوپتوزی همین را در شرایط استرس‌زا نشان داد، اما پیش از توصیه همین به‌منظور تقویت و بهبود سلول درمانی در انسان، انجام مطالعات بیش‌تر آزمایشگاهی، درون‌تنی و پیش‌بالینی برای بررسی و پایش بقای hADSCs پس از پیوند، با یا بدون تیمار همین، ضروری است.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از نتایج پایان‌نامه انجام شده با کد ۳۶۵ در گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی و سپاس صمیمانه خود را از همکاری ارزشمند اعضای محترم گروه علوم تشریح ابراز می‌دارند.

References

1- Musiał-Wysocka A, Kot M, Majka M. The pros and cons of mesenchymal stem cell-based therapies. Cell Transplant 2019; 28(7): 801-12. PMCID: PMC671950.

2- Tabatabaei Qomi R, Sheykhhasan M, Kalaher N, Ghiathi M. Chondrogenic differentiation of human adipose tissue–derived mesenchymal stem cells using a fibrin hydrogel scaffold. J Mazand Univ Med Sci 2015; 25(123): 21-31. (Persian)

3- Seo Y, Shin T-H, Kim H-S. Current strategies to enhance adipose stem cell function: an update. Int J Mol Sci 2019; 20(15): 3827. PMCID: PMC6696067.

4- Li M, Jiang Y, Hou Q, Zhao Y, Zhong L, Fu X. Potential pre-activation strategies for improving therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells: current status and future prospects. Stem Cell Res Ther 2022; 13(1): 146. PMCID: PMC8981790.

5- Estarreja J, Caldeira G, Silva I, Mendes P, Mateus V. The Pharmacological Effect of Hemin in Inflammatory-Related Diseases: Protocol for a Systematic Review. JMIR Res Protoc 2023; 12(1): e48368. PMCID: PMC10690530.

6- Abraham NG, Kappas A. Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase. Pharmacol Rev 2008; 60(1): 79-127. PMID: 18323402.

7- Donnelly LE, Barnes PJ. Expression of heme oxygenase in human airway epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 2001; 24(3): 295-303. PMID: 11245628.

8- Mohammadloo A, Asgari Y, Esmaeili-Bandboni A, Mazloomi MA, Ghasemi SF, Ameri S, et al. The Potential of Circulating

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

miR-193b, miR-146b-3p and miR-483-3p as Noninvasive Biomarkers in Cutaneous Melanoma Patients. Mol Biotechnol 2024; 66(10): 2830-40. PMID: 37934389.

9- Sharifzadeh M, Esmaeili-Bandboni A, Emami MR, Naeini F, Zarezadeh M, Javanbakht MH. The effects of all trans retinoic acid, vitamin D3 and their combination on plasma levels of miRNA-125a-5p, miRNA-34a, and miRNA-126 in an experimental model of diabetes. Avicenna J Phytomed 2022; 12(1): 67-78. PMCID: PMC8801211.

10- Sart S, Ma T, Li Y. Preconditioning stem cells for in vivo delivery. Biores Open Access 2014; 3(4): 137-49. PMCID: PMC4120806.

11- Shekarchi S, Roushandeh AM, Roudkenar MH, Bahadori MH. Dimethyl fumarate prevents cytotoxicity and apoptosis mediated by oxidative stress in human adipose-derived mesenchymal stem cells. Mol Biol Rep 2021; 48(9): 6375-85. PMID: 34426902.

12- Deng R, Liu Y, He H, Zhang H, Zhao C, Cui Z, et al. Haemin pre-treatment augments the cardiac protection of mesenchymal stem cells by inhibiting mitochondrial fission and improving survival. J Cell Mol Med 2020; 24(1): 431-40. PMCID: PMC6933414.

13- Grochot-Przeczek A, Dulak J, Jozkowicz A. Haem oxygenase-1: non-canonical roles in physiology and pathology. Clin Sci (Lond) 2012; 122(3): 93-103. PMID: 21992109.

14- Ryter SW, Morse D, Choi AM. Carbon monoxide and bilirubin: potential therapies for pulmonary/vascular injury and disease. Am J Respir Cell Mol Biol 2007; 36(2): 175-82. PMCID: PMC2176112.

15- Sheng WS, Hu S, Nettles AR, Lokensgard JR, Vercellotti GM, Rock RB. Hemin inhibits NO production by IL-1β-stimulated human astrocytes through induction of heme oxygenase-1 and reduction of p38 MAPK activation. J Neuroinflammation 2010; 7: 51. PMID: 20822529.

16- Yu X, Han W, Wang C, Sui D, Bian J, Bo L, et al. Upregulation of Heme Oxygenase-1 by hemin alleviates sepsis-induced muscle wasting in mice. Oxid Med Cell Longev 2018; 2018: 8927104. PMCID: PMC6250022.

17- Martín PL, Ceccatto P, Razori MV, Francés DE, Arriaga SM, Pisani GB, et al. Heme oxygenase-1 induction by hemin prevents oxidative stress-induced acute cholestasis in the rat. Clin Sci (Lond) 2019; 133(1): 117-34. PMID: 30538149.

18- El-Ashmawy NE, Al-Ashmawy GM, Farag AA, Ibrahim AO. Hemin versus erythropoietin: Possible role in Nrf2/HO-1 signaling pathway in rats with nephrotoxicity. Biomed Pharmacother 2022; 156: 113971. PMID: 36411647.

19- Bai F, Fan C, Lin X, Wang H-Y, Wu B, Feng C-L, et al. Hemin protects UVB-induced skin damage through inhibiting keratinocytes apoptosis and reducing neutrophil infiltration. J Photochem Photobiol B 2023; 238: 112604. PMID: 36525776.

20- Abdel-Hamid HA, Marey H, Ibrahim MFG. Hemin protects against cell stress induced by estrogen and progesterone in rat mammary glands via modulation of Nrf2/HO-1 and NF-κB pathways. Cell

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]

Stress Chaperones 2023; 28(3): 289-301. PMID: 36930344.

21- Han Q, Li G, Ip MS, Zhang Y, Zhen Z, Mak JC, et al. Haemin attenuates intermittent hypoxia-induced cardiac injury via inhibiting mitochondrial fission. J Cell Mol Med 2018; 22(5): 2717-26. PMCID: PMC5908095.

22- Ma Z, Ding J, Wang Y, Zhang T, Chen G, Huang J. Study of platelet-rich fibrin promoting endothelial cell differentiation and angiogenesis induced by transplantation of adipose-derived stem cells. Acta Histochem 2023; 125(6): 152059. PMID: 37329849.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-02]