

## پتانسیل درمانی اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی و مهارکننده اینفلامازوم ۳ در مدل کوپریزون

حمید عسکری (M.D)<sup>۱\*</sup>، مریم قاسمی کاسمان (Ph.D)<sup>۲</sup>

۱- کمیته تحقیقات، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

حمید عسکری: hamidask8055@gmail.com

### چکیده

هدف: استرس اکسیداتیو نقش مهمی در اختلالات نورودژنراتیو دارد. شواهد نشان می‌دهد که اگزوزوم‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی با تعدیل پاسخ سلولی خواص درمانی از خود نشان می‌دهند، هم‌چنین MCC-950، مهارکننده اینفلامازوم ۳، اثرات ضدالتهابی امیدوارکننده‌ای داشته است. این مطالعه با هدف بررسی پتانسیل درمانی اگزوزوم‌ها و MCC-950 در یک مدل استرس اکسیداتیو ناشی از کوپریزون انجام شد.

مواد و روش‌ها: سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان موش‌ها جداسازی و در محیط کشت DMEM-F12 کشت داده شدند. پس از تکثیر سلولی، اگزوزوم‌ها از محیط کشت استخراج شدند. یکپارچگی و توزیع اندازه اگزوزوم‌ها با تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و آزمایش پراکندگی نور پویا (DLS) تأیید شد. ۴۰ موش C57 به پنج گروه شامل یک گروه کنترل سالم و چهار گروه کوپریزون تقسیم شدند. کوپریزون به مدت شش هفته به صورت خوراکی در غلظت ۰/۲ درصد (W/W) تجویز شد. متعاقباً، گروه‌های تیمار سالین بافرسفات (PBS)، اگزوزوم، MCC-950 و ترکیبی از اگزوزوم و MCC-950 دریافت کردند. پارامترهای استرس اکسیداتیو، مانند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)، سطوح مالون دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و فعالیت کاتالاز (CAT)، در نمونه‌های مغز مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از GraphPad Prism 6.1، و آنالیز ANOVA یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی، با آستانه معنی‌داری  $P < 0.05$  انجام شد.

یافته‌ها: TEM وجود اگزوزوم‌ها را تأیید کرد. هم‌چنین DLS قطر متوسط ۹۲ نانومتر را نشان داد. مصرف کوپریزون نشان‌گرهای استرس اکسیداتیو را نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داد ( $P < 0.0001$ ). درمان با اگزوزوم‌ها، MCC-950 یا ترکیب آن‌ها روند امیدوارکننده‌ای را در کاهش سطوح استرس اکسیداتیو نشان داد. این مداخلات منجر به افزایش TAC، فعالیت SOD و فعالیت CAT و کاهش سطح MDA شد ( $P < 0.0001$ ).

نتیجه‌گیری: یافته‌های ما بر پتانسیل درمانی اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی و MCC-950 در کاهش استرس اکسیداتیو در مدل القاء شده با کوپریزون تأکید می‌کنند. تحقیقات بیشتر برای روشن کردن مکانیسم‌های اساسی و بهینه‌سازی این استراتژی‌های درمانی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: کوپریزون، استرس اکسیداتیو، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، اگزوزوم، مهار اینفلامازوم ۳



# Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes and inflammasome 3 inhibitor in a Cuprizone Model

Hamid Askari (M.D)<sup>1\*</sup>, Maryam Ghasemi Kasman (Ph.D)<sup>2</sup>

1- Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

2- Department of Physiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Hamid Askari: hamidask8055@gmail.com

**Introduction:** Oxidative stress plays a crucial role in neurodegenerative disorders. Emerging evidence suggests that mesenchymal stem cell-derived exosomes exhibit therapeutic properties by modulating cellular responses, while MCC-950, an NLRP3 inflammasome inhibitor, demonstrates promising anti-inflammatory effects. This study aimed to investigate the therapeutic potential of exosomes and MCC-950 in a cuprizone model.

**Methods and Materials:** Mice bone marrow mesenchymal stem cells were isolated and cultured in DMEM-F12 medium. Following cell proliferation, exosomes were extracted from the culture medium. The integrity and size distribution of the isolated exosomes were verified by transmission electron microscopy (TEM) imaging and dynamic light scattering (DLS) tests. Forty C57 mice were divided into five groups, including a healthy control group and four cuprizone groups. Cuprizone was orally administered at a concentration of 0.2% (W/W) for six weeks. Subsequently, the treatment groups received Phosphate-buffered saline (PBS), exosomes, MCC-950, and a combination of exosomes and MCC-950. Oxidative stress parameters, such as total antioxidant capacity (TAC), malondialdehyde (MDA) levels, superoxide dismutase (SOD) activity, and catalase activity (CAT), were evaluated in brain tissue samples. Data analysis was performed using GraphPad Prism 6.1, employing one-way ANOVA and Tukey's posthock, with a significance threshold of  $p < 0.05$ .

**Results:** The TEM imaging confirmed the presence of well-defined exosomes. Additionally, DLS analysis revealed an average diameter of 92 nm for the extracted exosomes. Cuprizone administration significantly increased oxidative stress markers compared to the control group ( $p < 0.034$ ). Treatment with exosomes, MCC-950, or their combination showed promising trends in reducing oxidative stress levels. These interventions resulted in enhanced TAC, decreased MDA levels, elevated SOD activity, and improved CAT activity ( $p < 0.029$ ).

**Conclusion:** Our findings underscore the therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived exosomes and MCC-950 in mitigating oxidative stress in the cuprizone model. Further investigations are warranted to elucidate the underlying mechanisms and optimize these therapeutic strategies.

**Keywords:** Cuprizone, Oxidative stress, Mesenchymal stem cells, Exosomes, Inflammasome 3 inhibition

