

بررسی اثر لیتيوم کلراید در القای سلول‌های استرومایی مغز استخوان به سلول‌هایی با فنوتیپ عصبی

نویسندگان: اکرم علیزاده*^۱، دکتر تقی طریحی^۲ و دکتر حسین دشت‌نورد^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد آناتومی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۲. استاد گروه علوم تشریح دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۳. استادیار گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

E-mail: alizadehbio@gmail.com

نویسنده مسئول:

چکیده

مقدمه و هدف: سلول‌های استرومایی مغز استخوان (BMSCs) نوعی سلول‌های بنیادی بالغ با قدرت تمایز بالا هستند. (BMSCs) می‌توانند به سلول‌هایی با منشأ مزودرمی و غیرمزودرمی تمایز پیدا کنند. که با توجه به قابلیت دسترسی این سلول‌ها منبع مناسبی از سلول‌های بنیادی بالغ جهت سلول درمانی هستند. اغلب موادی که تاکنون جهت القاء سلول‌های بنیادی به سلول‌های عصبی استفاده شده‌است همچون: اسید رتینوئیک، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، دپرنیل و... ترکیبات سمی هستند. لیتيوم یک داروی متعادل‌کننده خلق است (Mood stabilizer) که اثرات محافظتی بر سلول‌های عصبی دارد. هدف ما از این پژوهش استفاده از لیتيوم کلراید به‌عنوان یک القاگر غیرسمی برای القای فنوتیپ عصبی در سلول‌های استرومایی مغز استخوان است.

مواد و روش‌ها: BMSCs به روش آسپیراسیون مغز استخوان فمور و تییبای رت‌های بالغ ماده تهیه و کشت داده شدند. پس از چهار پاساژ سلول‌ها به وسیله لیتيوم کلراید با دوز ۰/۵ mM به مدت ۲۴ ساعت القاء شدند. سپس به دو روش بررسی میکروسکوپی و ایمونوسیتوشیمی بررسی گردیدند. در روش ایمونوسیتوشیمی از آنتی‌بادی علیه نوروفیلانت‌های ۱۶۰، ۶۸ و ۲۰۰ کیلودالتون و آنتی‌بادی علیه پروتئین سیناپتوفیزین جهت ارزیابی فنوتیپ عصبی استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که لیتيوم کلراید با دوز ۰/۵mM پس از ۲۴ ساعت قادر است سلول‌های BMSCs را به سلول‌هایی با فنوتیپ عصبی القاء کند. سلول‌هایی که قبل از القاء نسبت به نشانگر فیبرونکتین مثبت بودند ۹۵ درصد و سلول‌هایی که پس از القاء به نشانگرهای نوروفیلانت‌های ۱۶۰، ۶۸ و ۲۰۰ کیلودالتون و سیناپتوفیزین مثبت شدند به ترتیب ۸۹/۶، ۹۲، ۹۳/۲ و ۷۰/۲ درصد به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های استرومایی مغز استخوان، لیتيوم کلراید، القاء

این پژوهش در مرکز علوم اعصاب پژوهشکده مهندسی و پزشکی جانبازان انجام گردید.

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال شانزدهم - شماره ۷۹
اسفند ۱۳۸۷

وصول: ۸۷/۳/۲۰

ارسال اصلاحات: ۸۷/۷/۳

دریافت اصلاحات: ۸۷/۷/۲۱

پذیرش: ۸۷/۸/۷

مقدمه
استفاده از سلول‌های بنیادی تمایز یافته به سلول‌های عصبی در ترمیم آسیب‌های دستگاه عصبی و درمان بیماری‌هایی همچون آلزایمر و پارکینسون یکی از مهم‌ترین برنامه‌های علم پزشکی امروز است. از آن جا که دسترسی به منبعی از سلول‌های بنیادی مناسب یک اصل مهم در سلول درمانی است و مغز استخوان منبعی در دسترس و مناسب از سلول‌های بنیادی بالغ است تحقیقات بسیاری در زمینه استفاده از سلول‌های بنیادی مغز استخوان انجام شده‌است [۱ و ۲]. سلول‌های بنیادی مغز استخوان یا

سلول‌های بنیادی مناسب یک اصل مهم در سلول درمانی است و مغز استخوان منبعی در دسترس و مناسب از سلول‌های بنیادی بالغ است تحقیقات بسیاری در زمینه استفاده از سلول‌های بنیادی مغز استخوان انجام شده‌است [۱ و ۲]. سلول‌های بنیادی مغز استخوان یا

ثابت شده است لیتیوم اثرات محافظتی در مورد سلول‌های عصبی در محیط کشت دارد [۱۳] و بقای نوروهای گابا رژیک را القاء می‌کند [۱۴].

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت BMSCs

سلول‌های استرومایی مغز استخوان به طریقه آسپیراسیون مغز استخوان فمور و تیبیای رت‌های ماده توسط سرنگ ۵cc حاوی محیط کشت MEM (Alpha Minimal) ∞ Essential Medium-Gibco (Fetal Bovine – Gibco FBS10%) و Serum) تهیه و به داخل فلاسک کشت منتقل شدند. پس از ۴۸ ساعت سلول‌های استرومایی به کف فلاسک چسبیده و از ظاهر گرد به ظاهری دوکی شکل تغییر پیدا می‌کنند. در این مرحله با شستشو توسط PBS (Phosphate Buffer Saline-Gibco) سایر سلول‌های مغز استخوان حذف گردیدند. سلول‌های استرومایی مغز استخوان پس از چند روز کف فلاسک را پر کردند. در این مرحله سلول‌ها به وسیله آنزیم Accutase (Chemicon) از کف فلاسک جدا شده و به طور مساوی در دو فلاسک ریخته شدند. سپس به هر فلاسک محیط کشت MEM ∞ و FBS10% اضافه شد. این مرحله پاساژ سلولی نامیده می‌شود. سلول‌ها پس از ۴ بار پاساژ سلولی کاملاً یکدست شدند.

بررسی هویت استرومایی: BMSCs

برای شناسایی سلول‌های استرومایی مغز استخوان از روش ایمونوسیتوشیمی و نشانگر فیبرونکتین استفاده شد. سلول‌ها پس از ۴ بار پاساژ توسط پارافرمالدئید ۴ درصد فیکس شدند. پس از تیمار با محلول بلاک‌کننده سلول‌ها در معرض آنتی‌بادی اولیه آنتی‌فیبرونکتین با غلظت ۱ درصد قرار گرفتند سپس با آنتی‌بادی ثانویه Anti-mouse (FITC) با همان غلظت انکوبه شدند و با میکروسکوپ فلورسنت از نظر بیان پروتئین فیبرونکتین بررسی گردیدند.

بررسی زنده بودن BMSCs

برای بررسی زنده بودن سلول‌های استرومایی مغز استخوان قبل از آزمایش، از رنگ‌آمیزی تریپان بلو (Viability test) استفاده شد. در این رنگ‌آمیزی سوسپانسیون سلولی در PBS تهیه شد و یک نمونه به میزان برابری با تریپان بلو

سلول‌های استرومایی مغز استخوان (BMSCs) اولین بار در سال ۱۹۶۸ شناخته شده و به عنوان سلول‌هایی چسبنده، کلون‌ساز، غیرفاگوسیتوزکننده و شبیه فیبروبلاست معرفی شدند [۴ و ۳]. در محیط کشت برای شناسایی این سلول‌ها از سلول‌های غیراسترومایی از نشانگرهای اختصاصی این سلول‌ها مانند فیبرونکتین استفاده می‌شود [۶ و ۵]. این سلول‌ها در دوران جنینی از مزودرم منشاء می‌گیرند [۲] و قادرند در شرایط معمولی در محیط کشت تا ۴۵ بار تقسیم شوند [۷]. این سلول‌ها چند ظرفیتی هستند و نتایج تحقیقات متعدد حاکی از قدرت تمایز بالا در آن‌ها است [۸].

در شرایط آزمایشگاهی این سلول‌ها قادرند به سلول‌هایی با منشاء مزودرمی مانند استخوان، ماهیچه و غضروف و سلول‌هایی با منشاء غیرمزودرمی مانند نوروها و سلول‌های گلیال تبدیل شوند [۳ و ۹].

تاکنون برای تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های عصبی از مواد مختلفی همچون DMSO، اسید رتینوئیک، دپرنیل و بتامرکاپتواتانول استفاده شده است. علاوه بر قدرت القاء عصبی این مواد خواص سمی و کشنده برای سلول دارند. دستیابی به یک ماده یا دارو که علاوه بر قدرت القاء عصبی فاقد خواص سمی و مضر باشد ما را بر آن داشت از داروی لیتیوم کلراید استفاده کنیم. لیتیوم به‌عنوان یک داروی متعادل‌کننده خلق در درمان ناراحتی‌های دو قطبی (Manic – Depressive) استفاده می‌شود [۱۰ و ۱۱].

مکانیزم عمل و محل اثر لیتیوم متعدد و تاکنون در سطوح بیوشیمیایی و فیزیولوژی ناشناخته و مبهم است [۱۰، ۱۱ و ۱۲]. لیتیوم در چندین آبشار سیگنال‌دهنده در مغز اثر می‌کند از جمله میزان mRNA کدکننده پروتئین G را افزایش می‌دهد، میزان آدنوزین منوفسفات حلقوی (cAMP) را افزایش می‌دهد، فسفریلاسیون در چرخه CREB را افزایش می‌دهد، در محیط کشت میزان تجمع اینوزیتول تری فسفات ۵، ۴، ۱ را در نوروهای افزایش می‌دهد، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز را افزایش می‌دهد، دژنراسیون و آپوپتوز عصبی را کاهش می‌دهد و اثرات نوروزنژیک دارد [۱۱].

نتایج

یافته‌های حاصل از تهیه و کشت BMSCs

این سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت کشت از حالت گرد و مدور خارج شده دوکی شدند و به کف فلاسک چسبیدند پس از ۴ پاساژ سلول‌ها کاملاً به کف فلاسک چسبیده و یک دست به نظر رسیدند (تصویر ۱).

یافته‌های حاصل از بررسی هویت استرومایی BMSCs تأیید ماهیت استرومایی سلول‌های به دست آمده از مغز استخوان با استفاده از روش ایمونوسیتوشیمی و نشانگر فیبرونکتین انجام شد. در بررسی با میکروسکوپ فلورسنت بیش از ۹۵ درصد سلول‌ها ماهیت استرومایی داشته و فیبرونکتین را بیان کرده بودند (تصویر ۲).

یافته‌های حاصل از بررسی زنده بودن سلول‌های BMSCs: در بررسی زنده بودن BMSCs نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی تریپان بلو نشان داد بیش از ۹۷ درصد سلول‌ها رنگ نگرته و زنده هستند.

یافته‌های حاصل از تعیین دوز مناسب لیتیوم کلراید جهت القاء

پس از ۲۴ ساعت القاء توسط لیتیوم کلراید با دوزهای انتخابی نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی تریپان بلو یا تست بررسی حیات سلول برای تعیین میزان بقای سلولی در هر دوز نشان داد در دوز ۰/۵ mM بیش‌ترین بقای سلولی (۹۲ درصد) وجود دارد.

یافته‌های حاصل از بررسی سلول‌ها پس از القاء ۲۴ ساعت پس از القاء توسط لیتیوم کلراید سلول‌ها با میکروسکوپ اینورت بررسی شدند. سلول‌ها از نظر ظاهری از حالت پهن و چسبیده خارج شده زواید و استپاله‌هایی در اطراف سلول‌ها دیده شد. گاهی این زواید در سلول‌های مجاور به یکدیگر پیوسته و شبیه به سیناپس در سلول‌های عصبی بود (تصویر ۳).

بررسی و تأیید هویت سلول‌ها به روش ایمونوسیتوشیمی با توجه به تغییرات ظاهری ایجاد شده در سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت القاء، سلول‌ها به روش ایمونوسیتوشیمی بررسی شدند. نتایج حاصل از بررسی و شمارش سلولی پس از

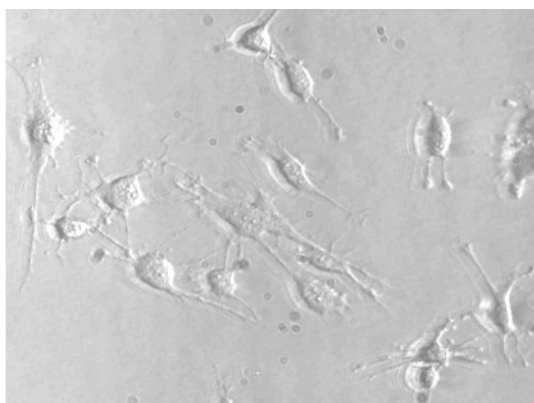
۰/۴ درصد رنگ‌آمیزی و در زیر میکروسکوپ به کمک لام نئوبار شمارش گردید. درصد سلول‌های زنده که در این رنگ‌آمیزی رنگ نگرفته بودند از سلول‌های مرده که در اثر عدم کارایی غشای سلولی به رنگ آبی درآمده بودند، مشخص شد.

تعیین دوز مناسب لیتیوم کلراید جهت القاء

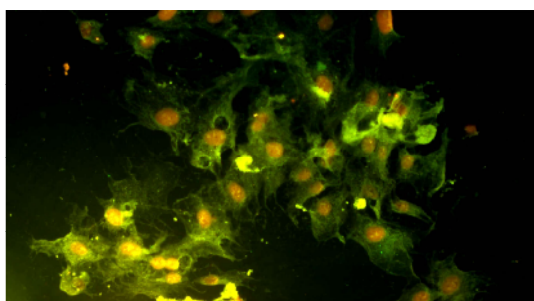
از آن‌جا که لیتیوم کلراید (L9650-Sigma) برای اولین بار جهت القاء BMSCs استفاده می‌شد تعیین دوز مناسب لازم بود. لذا با توجه به مطالعات مشابه دوزهای ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۵ و ۱۰ برحسب میلی‌مولار انتخاب شده و سلول‌های پلیت شده، به مدت ۲۴ ساعت توسط لیتیوم کلراید با دوزهای انتخابی القاء شدند. پس از ۲۴ ساعت با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان بلو یا تست بررسی حیات سلول (Viability test) میزان بقای سلولی در هر دوز بررسی گردید تا بهترین دوز از نظر بقای سلولی تعیین گردد.

بررسی هویت سلول‌ها پس از القاء

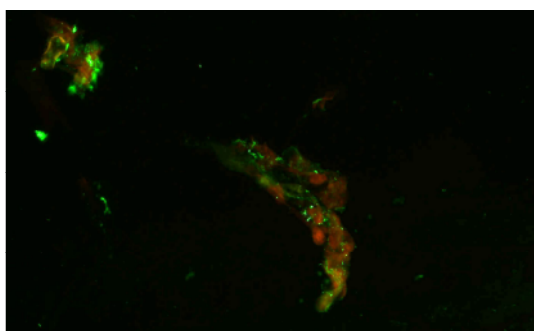
BMSCs پس از ۴ بار پاساژ با استفاده از آنزیم اکیوتاز (Accutase) جدا شده و سوسپانسیون سلولی تهیه شد. سلول‌ها با Viability بیش‌تر از ۹۷ درصد با تراکم 10^4 در داخل پلیت‌های ۲۴ خانه که قبلاً لامل‌گذاری شده بود، قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت که سلول‌ها کاملاً به لامل چسبیدند محیط کشت تعویض شده و سلول‌ها پس از شستشو با PBS در محیط کشت MEM ∞ و FBS 10% حاوی لیتیوم کلراید به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت سلول‌های القاء شده با لیتیوم کلراید به دو روش بررسی شدند؛ استفاده از میکروسکوپ اینورت و استفاده از روش ایمونوسیتوشیمی و بررسی نوروفیلانمنت‌های ۶۸، ۱۶۰ و ۲۰۰ کیلو دالتون (Abcam) و سیناپتوفیزین (Chemicon). در روش ایمونوسیتوشیمی، سلول‌ها با استفاده از پارافرمالدئید ۴ درصد فیکس شدند. پس از تیمار با محلول بلاک‌کننده سلول‌ها در معرض آنتی‌بادی اولیه برای نشانگرهای ذکر شده با غلظت ۱ درصد سپس از آنتی‌بادی ثانویه (Anti-mouse FITC) با همان غلظت استفاده شد.



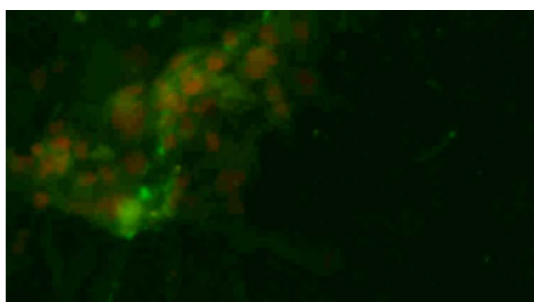
تصویر ۳. BMSCs پس از ۲۴ ساعت القا با لیتیوم کلراید ۰.۵mM. ۴۰۰X.



تصویر ۴. بیان نوروفیلامنت ۶۸ کیلودالتون توسط سلول‌های القا شده با لیتیوم کلراید (۰/۰۵mM و ۴۰۰X).



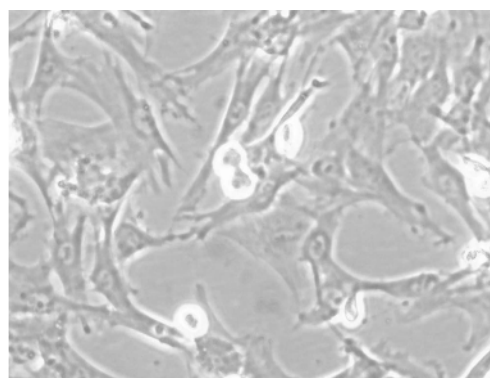
تصویر ۵. بیان نوروفیلامنت ۱۶۰ کیلودالتون توسط سلول‌های القا شده با لیتیوم کلراید (۰/۰۵mM و ۴۰۰X).



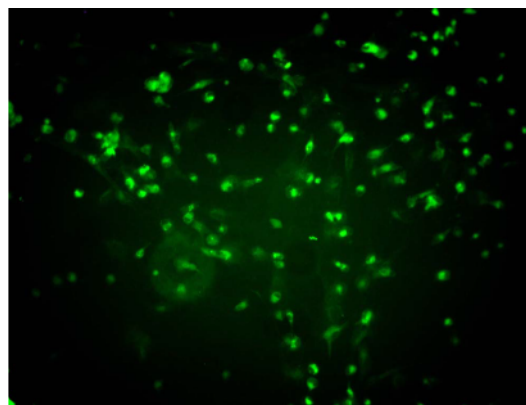
تصویر ۶. بیان نوروفیلامنت ۲۰۰ کیلودالتون توسط سلول‌های القا شده با لیتیوم کلراید (۰/۰۵mM و ۴۰۰X).

ایمنوسیتوشیمی در گروه‌های القاء شده و گروه کنترل نسبت به بیان نوروفیلامنت‌های ۲۰۰، ۱۶۰، ۶۸ کیلودالتون و سیناپتوفیزین (تصاویر ۷-۴) در گروه‌های مختلف به شرح نمودارهای ۴-۱ است.

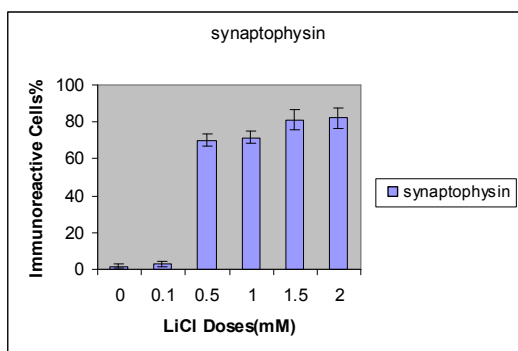
با توجه به این‌که داده‌ها در نمودارهای ۴-۱ در هر گروه توزیع نرمال دارند مقایسه بین گروه‌های آزمایش و گروه کنترل از طریق T-Test و آنوای یک‌طرفه انجام شد. همان‌طور که در نمودارها مشخص است درصد بیان هر یک از نشانگرهای مطالعه در دوز ۰/۵mM و بالاتر در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنادار است ($p < 0/05$). با افزایش دوز میزان بیان نشانگرها افزایش می‌یابد که البته این افزایش در مقایسه با دوز ۰/۵ mM از نظر آماری معنادار نیست ($p > 0/05$).



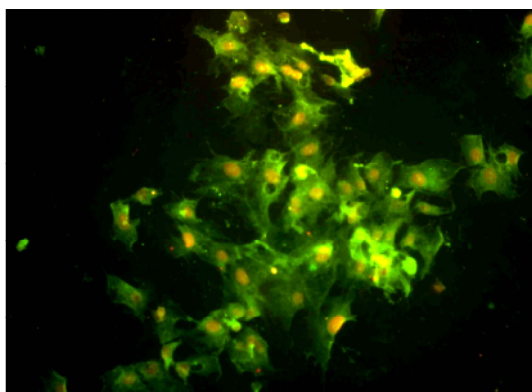
تصویر ۱. BMSCs در پاساژ چهارم ۴۰۰X.



تصویر ۲. بیان فیبرونکتین توسط BMSCs ۱۰۰X.



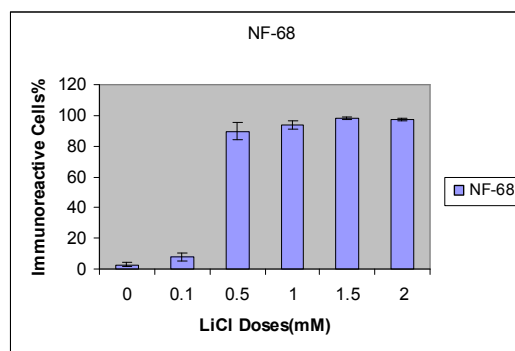
نمودار ۴. این نمودار مربوط به نتایج حاصل از بررسی ایمونوسیتوشیمی بیان پروتئین سیناپتوفیزین در BMSCs پس از القاء با لیتیوم کلراید و در مقایسه با گروه کنترل است ($p < 0.05$) که پس از شمارش سلول‌ها در دو مرحله (با نور معمولی و نور فلورسنت) و به صورت درصد بیان شده است.



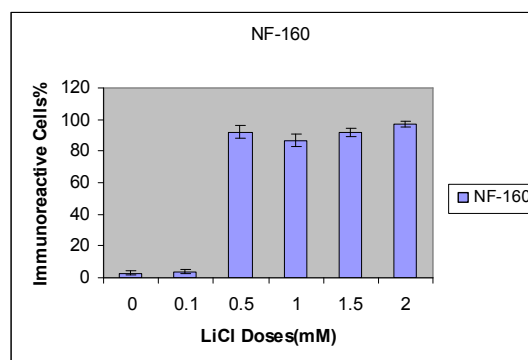
تصویر ۷. بیان سیناپتوفیزین توسط سلول‌های القا شده با لیتیوم کلراید (۰/۰۵mM و ۴۰۰X)

بحث و نتیجه گیری

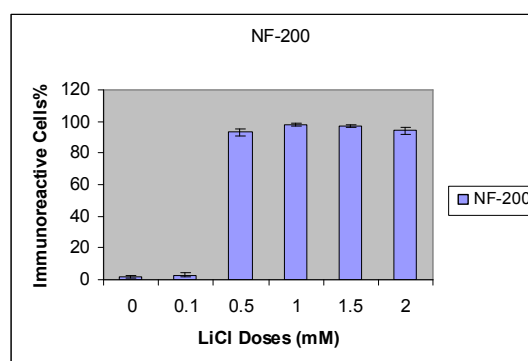
هدف ما از انجام این مطالعه بررسی اثر لیتیوم کلراید در القای BMSCs به سلول‌های عصبی بود و طراحی آزمایش با توجه به مطالعات مشابه صورت گرفت [۱۵]. با این تفاوت که آنتی‌بادی‌های مورد استفاده جهت اثبات تمایز BMSCs به سلول‌های عصبی علیه نوروفیلانمنت‌های ۲۰۰، ۱۶۰، ۶۸ کیلودالتون و سیناپتوفیزین استفاده شده است. دوزهای مطالعه با توجه به گزارش آقای جین سوک (Jin Seuk) انتخاب شدند [۱۲]. با توجه به این‌که فیرونکتین که یک پروتئین ویژه سلول‌های استرومایی است [۵ و ۶]. در BMSCs قبل از القا بیش از ۹۵ درصد بیان شده بود اما پس از القاء با لیتیوم کلراید میزان بیان فیرونکتین به صفر رسید نشان داده می‌شود سلول‌ها پس از القا دیگر ماهیت استرومایی نداشته‌اند از طرفی بیان نوروفیلانمنت‌های ۲۰۰،



نمودار ۱. این نمودار مربوط به نتایج حاصل از بررسی ایمونوسیتوشیمی بیان نوروفیلانمنت ۶۸ کیلودالتون در BMSCs پس از القاء با لیتیوم کلراید و در مقایسه با گروه کنترل است ($p < 0.05$) که پس از شمارش سلول‌ها در دو مرحله (با نور معمولی و نور فلورسنت) و به صورت درصد بیان شده است.



نمودار ۲. این نمودار مربوط به نتایج حاصل از بررسی ایمونوسیتوشیمی بیان نوروفیلانمنت ۱۶۰ کیلودالتون در BMSCs پس از القاء با لیتیوم کلراید و در مقایسه با گروه کنترل است ($p < 0.05$) که پس از شمارش سلول‌ها در دو مرحله (با نور معمولی و نور فلورسنت) و به صورت درصد بیان شده است.



نمودار ۳. این نمودار مربوط به نتایج حاصل از بررسی ایمونوسیتوشیمی بیان نوروفیلانمنت ۲۰۰ کیلودالتون در BMSCs پس از القاء با لیتیوم کلراید و در مقایسه با گروه کنترل است ($p < 0.05$) که پس از شمارش سلول‌ها در دو مرحله (با نور معمولی و نور فلورسنت) و به صورت درصد بیان شده است.

منابع

- Zhao I., Duan W. Human bone marrow Stem cell exhibit neural phenotypes and amelio rat neurological deficits after grafting in to the ischemic brain of rats. *Experimental Neurology*, 2002; 174:11-20.
- Yan XB. Hou HL. Lithium regulates hippocampal neurogenesis by ERK pathway and facilitates recovery of spatial learning and memory in rats after transient global cerebral ischemia. *Neuropharmacology*, 2007; 53:487-95.
- Ferrari G., Cusella-Deangelis G., coletta M., Paolucci E. et al. Muscle regeneration by bone marrow derived myogenic progenitors. *Science*, 1998; 72:1528-30.
- Bianco P, Robey PG. Marrow Stromal Stem cell. *Gelin invest*, 2000; 105:1663-68.
- Seshi B., Kumar S., Sellers D. Human bone marrow stromal cell: co expression of markers specific for multiple mesenchymal cell lineage. *Blood cells molecule and disease*. 2000; 26(3):234-245.
- Kopen G., Prokop D., phinney D. marrow stromal cells migrate throughout forbidden and cerebellum and differentiate in to astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proceedings of the National Academy of sciences of the USA*, 1999; 96:10711-16.
- Bruder SP., Gaiswal N. et al. Growth Kinetics, Self renewal and ost eogenic potential of purified human mesenchymal Stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *cell biochem*, 1997; 64:278-294.
- Black IB., Wood bury D. Adult rat and human bone marrow stromal stem cells differentiate into nurons. *Blood cells molecule and disease*, 2001; 27(3):632-6.
- Tiang Y., Henderson D. neuroectodermal differentiation from mouse multipotent adult progenitor cells. *Proceedings of the National Academy of sciences of the USA*, 2003; 991:46-51.
- Gin seuk k., Mi-Yook C. et al. Lithium selectively increases neuronal differentiation of hippocampal neural progenitor cells both invitro and invivo. *Neurochemistry*, 2004; 89:324-336.

۱. ملک علایی محسن. در ترجمه فارماکولوژی پایه و بالینی، کاتزونگ برترام ج (مولف). چاپ اول. تهران: انتشارات نسل فردا، ۱۳۸۳، صفحات ۶۰۳-۶۰۱.
- Hashimoto R., Senatoro V. et al. Lithium stimulates progenitor proliferation in cultured brain neurons. *Neuroscience*, 2003; 117:55-61.
- Yeste M., Alvira D. Evaluation of acute antiapoptotic effects of lithium in neuronal cell cultures. *Neural Transm*, 2007; 114:405-16.
- Volontec., Ciotti MT. et al. LiCl induces survival of GABA ergic neurons. *Neuroscience*, 1994; 172: 6-10.
- Movaghar B, Tiraihi T, Mesbah-Namin SA. Transdifferentiation of bone marrow stromal cells into schwan cell phenotype using progesteron as inducer. *Brain research*, 2008; 1208:17-29.

۱۶. اسماعیلی ف. بررسی اثر داروی دپرنیل بر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی موش، رساله دکتری، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۳.

۱۶۰، ۶۸ کیلودالتون که در سلول‌های عصبی در حال تمایز بیان می‌شوند در این سلول‌ها بیان‌کننده تمایز عصبی است همچنین بیان پروتئین سیناپتوفیزین که یک پروتئین غشائی وزیکول پیش‌سیناپسی است نشان‌دهنده ایجاد سیناپس در این سلول‌ها است. نتایج نشان می‌دهد در دوز ۰/۵mM و بالاتر این تمایز عصبی دیده می‌شود و با توجه به این که در این دوز بیش‌ترین بقای سلولی وجود دارد و از طرفی میزان بیان نشانگرهای مطالعه در این دوز و در مقایسه با دوزهای بالاتر از نظر آماری معنادار نیست می‌توان بیان داشت لیتیوم کلراید در دوز ۰/۵mM به‌عنوان دوز بهینه قادر است BMSCs را به سلول‌های عصبی القا کند.

در مقایسه با سایر القاگرهایی که تاکنون در تمایز عصبی استفاده شده‌اند همچون اسید رتینوئیک، DMSO و... مدت زمانی که سلول‌ها تحت تأثیر لیتیوم کلراید به سلول‌های عصبی تمایز می‌یابند (۲۴ ساعت) بسیار کوتاه‌تر است. در مقایسه با اسید رتینوئیک میزان بقای سلول‌ها پس از القا با این دارو بیش‌تر است [۱۶] همچنین در مقایسه با سایر القاگرها مطالعات انجام شده نشان می‌دهد این دارو در *in vivo* و *in vitro* اثرات محافظتی بر بافت عصبی داشته و تکثیر سلول‌های پیش‌ساز عصبی را افزایش می‌دهد [۱۲ و ۱۳]. همچنین ثابت شده است لیتیوم کلراید می‌تواند فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز را در نورون‌ها افزایش دهد [۱۱]. آنچه تاکنون در مورد سایر القاگرهای عصبی مطرح نشده است.

نتایج این تحقیق لیتیوم کلراید را به‌عنوان یک عامل القایی قوی و مناسب برای تمایز BMSCs به سلول عصبی تأیید می‌کند. با توجه به اثر لیتیوم کلراید در درمان بسیاری از بیماری‌های عصبی تحقیقات بیش‌تر می‌تواند دیگر جنبه‌های درمانی این ماده را نیز به خدمت درآورد.