

اثر سسامول بر پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتیک و میزان بیان اینترلوکین‌های ۶ و ۱۰ در عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش صحرایی

نسترن عامریان^۱ (M.Sc)، اطهر طالبی^۱ (M.Sc)، محبوبه موسوی^۲ (Ph.D)، علی قنبری^۳ (Ph.D)، حسین علی صفاخواه^۳ (M.Sc)، سام زربخش^{۱*} (Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۵

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳-۳۳۶۵۴۲۱۸ - szarbaksh@yahoo.com

چکیده

هدف: آسیب اعصاب محیطی یک مشکل بالینی است که باعث ناتوانی حسی و حرکتی می‌شود. سسامول یک آنتی‌اکسیدان است که می‌تواند در ترمیم ارگان‌های مختلف موثر باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر دوزهای مختلف سسامول بر التهاب و درد در عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند: گروه شم بدون ایجاد آسیب، گروه کنترل و سه گروه تجربی که پس از آسیب به عصب سیاتیک به مدت ۲۸ روز به ترتیب DMSO (حلال) و دوزهای ۵۰، ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول را به صورت داخل صفاقی دریافت می‌کردند. سپس تست‌های رفتاری درد شامل آلودینیای مکانیکی و هایپراآلژیای حرارتی و همچنین فاکتورهای التهابی شامل اینترلوکین ۶ و ۱۰ در عصب سیاتیک مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تجویز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول به طور معناداری باعث کاهش بیان اینترلوکین ۶، افزایش بیان اینترلوکین ۱۰، افزایش آستانه پس کشیدن پا در آزمون آلودینیای مکانیکی و افزایش زمان پاسخ به درد حرارتی در آزمون هایپراآلژیای حرارتی در عصب سیاتیک آسیب‌دیده نسبت به گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). در حالی که تجویز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول تاثیر معناداری نداشت.

نتیجه‌گیری: تجویز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول ممکن است باعث کاهش التهاب و درد در عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش صحرایی گردد که احتمالاً می‌تواند به بهبود روند ترمیم عصب کمک کند.

واژه‌های کلیدی: اینترلوکین ۶، اینترلوکین ۱۰، درد، سسامول، عصب سیاتیک، موش صحرایی

مقدمه

حال زمان ترمیم عصب محدود است و اگر به طول بی‌انجامد، بازسازی صورت نمی‌گیرد. در واقع هر چقدر فرایند بازسازی و ترمیم عصب سریع‌تر انجام شود، احتمال موفقیت بیشتر خواهد بود. به علاوه التهاب ناشی از آسیب یکی از مواردی است که باعث ایجاد درد و اختلال در روند ترمیم می‌گردد. به همین دلیل پژوهشگران به دنبال روش‌هایی هستند که با کاهش التهاب و درد و تسریع رشد آکسون‌ها ترمیم عصب آسیب‌دیده را بهبود بخشند [۵،۶].

آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با دوزهای مناسب از سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند [۷-۹]. مطالعات نشان داده است که استرس اکسیداتیو موجب التهاب و

آسیب اعصاب محیطی یک مشکل بالینی جهانی است که کیفیت زندگی بیماران را تحت تاثیر قرار می‌دهد و باعث ناتوانی‌های حسی و حرکتی می‌گردد [۱]. شیوع این مشکل بین ۱۳ تا ۲۳ بیمار در هر ۱۰۰،۰۰۰ نفر تخمین زده می‌شود [۲]. آسیب اعصاب محیطی فعالیت‌ها را محدود می‌کند و می‌تواند باعث آتروفی و فیروز غیر قابل بازگشت عضلات گردد [۳]. در اعصاب محیطی ترمیم خودبه‌خودی پس از آسیب تا حدودی وجود دارد به طوری که پس از ایجاد آسیب، آکسون‌های بخش دیستال عصب به تدریج از بین رفته، آکسون‌های قسمت پروگزیمال رشد کرده وارد بخش دیستال می‌شوند [۴]. با این

مدت چهار دقیقه بسته شد. بعد از آن عصب را به آرامی بین عضلات قرار داده و پوست با نخ ۵-۰ سیلک بخیه شد [۲۳].

گروه بندی حیوانات. به طور تصادفی حیوانات به پنج گروه هفت تایی تقسیم شدند: گروه شم، پس از نمایان کردن عصب سیاتیک، بدون ایجاد آسیب، مجدداً عصب را در محل خود قرار داده پوست بخیه شد. گروه شاهد (کنترل)، پس از ایجاد مدل آسیب، DMSO (ساخت شرکت سیگما، سوییس، شماره کاتالوگ D4540-100ML) با غلظت نیم درصد به عنوان حلال سسامول به مدت ۲۸ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد و سه گروه تجربی (تیمار) که پس از ایجاد مدل آسیب، ۵۰، ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم سسامول (ساخت شرکت سیگما، آلمان، شماره کاتالوگ S3003-25G-A) به مدت ۲۸ روز به صورت داخل صفاقی تزریق شد [۲۴].

روش های ارزیابی پاسخ رفتاری درد. یک روز پس از آخرین تزریق، رفتار حیوانات جهت بررسی اثرات سسامول بر درد نوروپاتیک به وسیله تست های آلودینیای مکانیکی و هایپرآلژزیای حرارتی مورد سنجش قرار گرفت.

آلودینیای مکانیکی. برای بررسی آلودینیای مکانیکی، حیوانات بر روی یک شبکه سیمی در داخل محفظه ای از جنس پلاکسی گلاس به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر قرار گرفته، بعد از عادت کردن به محیط جدید به مدت ۱۰ دقیقه، از تارهای مختلف Von Frey test جهت سنجش آلودینیای مکانیکی استفاده شد. این تارها به شکلی بودند که هر چه نیروی وارده از طرف آزمایشگر افزایش می یافت، به علت انعطاف پذیر بودن تارها میزان نیروی وارده به سطح تغییر نمی کرد. هر تار متناسب با قطر آن میزان نیروی مشخصی بر حسب گرم به سطح وارد می کرد. در این آزمایش از تارهایی که ۲-۶ گرم نیرو به سطح وارد می کردند (ساخت شرکت Stoelting، آمریکا) استفاده شد. نیروی وارد شده به سطح توسط این تارها در محدوده ۶۰-۲۶-۱۵-۱۰-۸-۶-۴-۲ گرم بود که از کمترین شماره تار شروع شده به ترتیب در صورت عدم پاسخ، شماره های بالاتر انتخاب گردید. هر تار را سه بار متوالی به فاصله پنج ثانیه و هر بار به مدت یک ثانیه به کف پای راست حیوان فشار داده و چنانچه دو بار متوالی پاسخ داد (پای خود را بلند کرد) به عنوان آستانه پاسخ بوده و دیگر آزمایش ادامه پیدا نمی کرد. در صورتی که حیوان به تار شماره ۶۰ نیز پاسخ نمی داد عدد ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته شد [۲۶، ۲۵].

هایپرآلژزیای حرارتی. در این تست حیوان در محفظه مخصوص دستگاه Plantar test قرار گرفت و بعد از عادت کردن به محیط جدید، منبع تابش اشعه مادون قرمز در زیر پای

درد می گردد در حالی که آنتی اکسیدان ها با کاهش التهاب و درد به روند بهبودی کمک می کنند [۱۱، ۱۰]. هم چنین مشخص شده است که برخی از آنتی اکسیدان ها می توانند باعث تسریع فرایند رشد آکسون های اعصاب محیطی پس از آسیب گردند [۱۳، ۱۲]. سسامول (Sesamol) یک آنتی اکسیدان با پتانسیل درمانی بالا از دسته پلی فنول ها می باشد که از دانه کنجد به دست می آید و به عنوان یک مهارکننده قوی رادیکال های آزاد شناخته می شود [۱۵، ۱۴]. بررسی ها نشان داده اند که سسامول می تواند با کاهش التهاب و درد نوروپاتیک در بهبودی بافت عصبی آسیب دیده موثر باشد [۱۷، ۱۶]. به علاوه در سیستم اعصاب مرکزی، سسامول دارای اثرات محافظتی و درمانی است و می تواند سطح فاکتور رشد عصبی (NGF) nerve growth factor را در مغز افزایش دهد که باعث رشد آکسون ها می گردد [۲۰-۱۸]. هم چنین سسامول می تواند عملکرد سد خونی مغزی را در موش های دیابتیک بهبود دهد و با ترمیم اختلال سیگنالینگ انسولین، نقایص شناختی ناشی از چربی و قند بالا را در سیستم اعصاب مرکزی کاهش دهد [۲۲، ۲۱]. با توجه به خواص سسامول بر روی سیستم اعصاب مرکزی، این امکان وجود دارد که بتواند با کاهش التهاب و درد در اعصاب محیطی به روند ترمیم آسیب عصب کمک کند.

در این مطالعه برای اولین بار، اثرات دوزهای مختلف سسامول بر پاسخ های رفتاری درد و سایتوکاین های التهابی اینترلوکین ۶ و ۱۰ پس از ایجاد آسیب در عصب سیاتیک موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

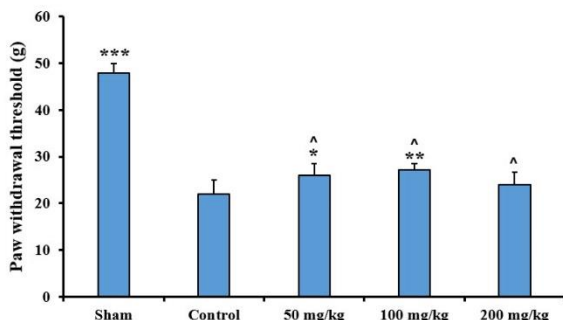
این مطالعه از نوع تجربی بود و با مجوز کمیته اخلاق به شماره IR.SEMUMS.REC.1399.352 در دانشگاه علوم پزشکی سمنان انجام شد.

حیوانات. در این مطالعه از ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند و در اتاق کنترل شده از نظر نور و حرارت با سیکل منظم ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت حدود ۲۵ درجه سانتی گراد نگاه داری شدند.

ایجاد مدل آسیب. برای ایجاد مدل آسیب، موش های صحرایی با داروهای کنامین (۸۰ میلی گرم/کیلوگرم) و گزیلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بی هوش شده پس از باز کردن پوست خلف ران سمت راست در شرایط استریل، عصب سیاتیک نمایان شد. سپس با استفاده از یک کلمپ هموستات، ۱۰ میلی متر بالاتر از محل دو شاخه شدن عصب سیاتیک به

نتایج

آلودینیای مکانیکی. نتایج آلودینیای مکانیکی نشان داد که تزریق ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ($P < 0.05$) و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ($P < 0.01$) سسامول موجب افزایش معنادار آستانه پس کشیدن پا در پاسخ به تحریک مکانیکی نسبت به گروه شاهد شد، در حالی که تجویز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول تفاوت معناداری با گروه شاهد ایجاد نکرد. نتایج گروه شم به طور معناداری مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0.001$) (شکل ۱).



شکل ۱- اثر سسامول بر پاسخ درد ناشی از تحریک مکانیکی. آستانه پاسخ به تحریک مکانیکی در گروه‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول به طور معناداری بیشتر از گروه شاهد (کنترل) بود. $P < 0.05$ *, $P < 0.01$ * و $P < 0.001$ ** در مقایسه با گروه شاهد. $P < 0.001$ ^ در مقایسه با گروه شم.

هایپرآلژزیای حرارتی. نتایج هایپرآلژزیای حرارتی نشان داد که تزریق ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول موجب افزایش معنادار ($P < 0.05$) زمان پاسخ به درد حرارتی در پای آسیب‌دیده نسبت به گروه شاهد شد. تجویز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول باعث ایجاد تفاوت معناداری نسبت به گروه شاهد نگردید. نتایج گروه شم به طور معناداری مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0.001$) (شکل ۲).

میزان بیان اینترلوکین ۶. نتایج وسترن‌بلات عصب سیاتیک نشان داد که تزریق دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول موجب کاهش معنادار ($P < 0.001$) بیان اینترلوکین ۶ نسبت به گروه شاهد گردید، در حالی که تزریق ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول تفاوت معناداری با گروه شاهد ایجاد نکرد. نتایج گروه شم به طور معناداری مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0.001$) (شکل ۳).

حیوان قرار داده شد. با روشن شدن دستگاه، اشعه به پای راست حیوان تابیده و دستگاه شروع زمان تابش را ثبت و در صورتی که پای خود را به دلیل سوختن حرکت می‌داد دستگاه خاموش و تایمر دستگاه زمان تحمل حیوان را به ثانیه نشان می‌داد. زمان قطع آزمایش ۶۰ ثانیه بود. این آزمایش سه بار متوالی به فاصله پنج دقیقه انجام گرفت و میانگین سه زمان به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد [۲۸،۲۷].

بررسی اینترلوکین ۶ و ۱۰. پس از ارزیابی پاسخ‌های رفتاری درد، ابتدا موش‌های صحرایی بی‌هوش شده و با روش جابه‌جایی ناگهانی نخاع گردنی کشته شدند. سپس عصب سیاتیک خارج گردید و اثر سسامول بر میزان بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی اینترلوکین ۶ و ضد التهابی اینترلوکین ۱۰ در عصب با استفاده از تکنیک وسترن‌بلات مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک وسترن‌بلات. ابتدا عصب سیاتیک در هر گروه با استفاده از بافر ریا (ساخت شرکت Cell Signaling Technology، هلند، شماره کاتالوگ ۹۸۰۶) و پروتئین اینهیبیتور (ساخت شرکت Roche، سوییس، شماره کاتالوگ ۱۱۸۳۶۱۷۰۰۱) به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ لیز شد. سپس با استفاده از سانتیفریوژ با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مخلوط گشت. ۸۰ میکروگرم پروتئین استخراج شده در ژل آکریل‌امید ۱۲٪ (ساخت شرکت Merck، آلمان، شماره کاتالوگ ۴۰۵۸) قرار گرفت و به دستگاه الکتروفورز وصل شد. در ادامه پروتئین‌ها به غشای نیتروسولوز (ساخت شرکت Amersham Biosciences، آمریکا، شماره کاتالوگ GE۱۰۴۰۰۰۰۲) منتقل گشت. غشاءها به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با آنتی‌بادی‌های اولیه (ساخت شرکت Abcam، آمریکا) شامل اینترلوکین ۶ (شماره کاتالوگ ab۲۵۹۳۴۱)، اینترلوکین ۱۰ (شماره کاتالوگ ab۱۹۲۲۷۱) و بتا‌کتین (شماره کاتالوگ ab۸۲۲۷) (به نسبت یک به هزار) انکوبه شدند. پس از شست‌وشو، غشاءها با آنتی‌بادی ثانویه کنزوگه با HRP (به نسبت یک به پنج هزار) انکوبه شدند. سپس باندها با سیستم تشخیصی کمیلومینسنس ظاهر و جهت بررسی نیمه کمی سطح بیان پروتئین از نرم‌افزار Image J استفاده شد. در نهایت تراکم باندهای پروتئین با بتا‌کتین به عنوان آنتی‌بادی کنترل نرمالیزه گشت [۲۹].

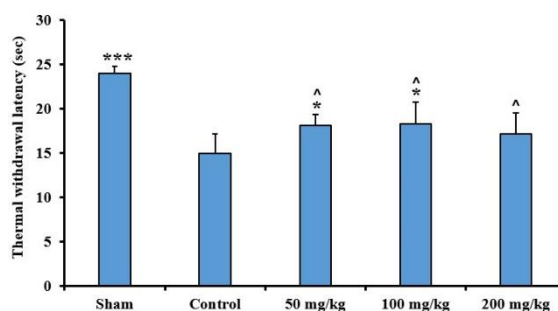
تجزیه و تحلیل داده‌ها. برای آزمون آماری داده‌ها، پس از تایید نرمال بودن متغیرها، از روش آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنادار اختلاف داده‌ها در نظر گرفته شد.

سسامول موجب افزایش معنادار ($P < 0.001$) بیان اینترلوکین ۱۰ نسبت به گروه شاهد گردید. تزریق ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول باعث ایجاد تفاوت معناداری نسبت به گروه شاهد نگردید. نتایج گروه شم به طور معناداری مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0.001$) (شکل ۳).

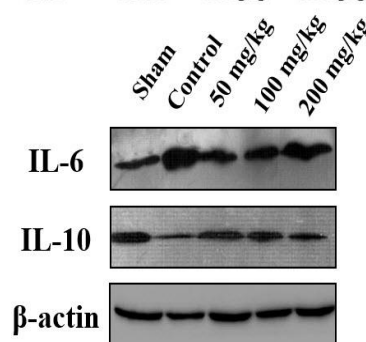
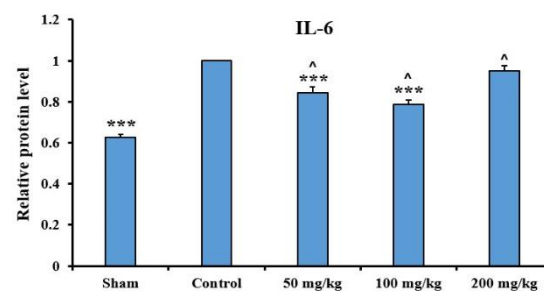
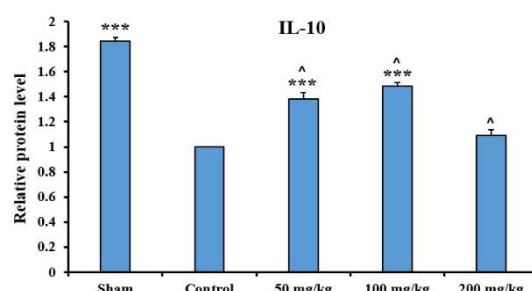
بحث و نتیجه‌گیری

پس از رخ دادن آسیب در اعصاب محیطی، فرآیند ترمیم آغاز می‌شود. این در حالی است که زمان ترمیم محدود بوده و در صورتی که طولانی گردد، ترمیم صورت نخواهد گرفت [۵،۴]. از جمله مواردی که بر روند ترمیم عصب آسیب‌دیده تاثیر نامطلوب می‌گذارد التهاب و درد ناشی از آسیب است. در مطالعه حاضر، اثر دوزهای مختلف سسامول به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بر التهاب و درد عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی نتایج نشان داد که سسامول با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم باعث کاهش التهاب و درد در عصب سیاتیک آسیب‌دیده شد. در صورتی که دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تاثیر معناداری بر کاهش التهاب و درد روی عصب آسیب‌دیده نداشت.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند کوئرستین و پوترارین می‌توانند بر کاهش التهاب و درد موثر باشند [۳۱،۳۰]. هم‌چنین Zhang و همکاران گزارش کرده‌اند که کورکومین از طریق مهار استرس اکسیداتیو و فعال نمودن مسیر nuclear factor kappa B (NF- κ B) باعث کاهش التهاب و درد در اعصاب محیطی آسیب‌دیده می‌گردد [۱۱]. در مطالعه دیگری، Wu و همکاران گزارش کرده‌اند کاهش التهاب و درد در اعصاب محیطی به بهبود روند ترمیم عصب کمک می‌کند [۶]. به همین دلایل این احتمال وجود دارد که سایر آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله سسامول نیز با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، باعث کاهش التهاب و درد در اعصاب محیطی آسیب‌دیده و در نهایت بهبود روند ترمیم عصب شود. در همین ارتباط Gao و همکاران ملاحظه کردند که سسامول می‌تواند با تعدیل فاکتورهای التهابی باعث کاهش التهاب و درد در سیستم عصبی مرکزی گردد [۱۶]. هم‌چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی و ترمیم‌کنندگی سسامول در ارگان‌های مختلف گزارش شده است. به عنوان مثال، Ghadge و همکاران دریافتند که سسامول با بازیابی پتانسیل‌های غشای میتوکندری، از سلول‌های بتای پانکراس در برابر سمیت ناشی از سیمواساتین محافظت می‌کند [۳۲]. Chandrasekaran و همکاران گزارش کرده‌اند که سسامول دارای اثرات ترمیمی در برابر استرس اکسیداتیو میتوکندری و آسیب کبدی در مصرف بیش از حد استامینوفن است [۳۳] و Vennila و همکاران



شکل ۲. اثر سسامول بر پاسخ درد ناشی از تحریک حرارتی. زمان پاسخ به درد حرارتی در گروه‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول به طور معناداری بیشتر از گروه شاهد (کنترل) بود. $P < 0.05$ * و $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه شاهد. $P < 0.001$ ^ در مقایسه با گروه شم.



شکل ۳- اثر سسامول بر بیان اینترلوکین‌های ۶ و ۱۰ در عصب سیاتیک. الف) نتایج بیان اینترلوکین ۶، ب) نتایج بیان اینترلوکین ۱۰، ج) ایمونوبلات اینترلوکین‌های ۶ و ۱۰. $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه شاهد (کنترل) و $P < 0.001$ ^ در مقایسه با گروه شم.

میزان بیان اینترلوکین ۱۰. نتایج وسترن‌بلات عصب سیاتیک نشان داد که تزریق دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

سسامول هم سو با مطالعات دیگری بر روی سایر بافت‌ها بود [۳۹،۳۴].

Ren و همکاران گزارش کرده‌اند که سسامول دارای خواص مختلفی از جمله آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و نوروپروتکتیو است. آن‌ها رژیم غذایی حاوی سسامول را به مدت ۱۲ هفته برای موش‌های سوری آزمایش کردند و متوجه شدند که سسامول با کاهش استرس اکسیداتیو از جمله مالون دی‌آلدئید و مهار بیان سایتوکین‌های التهابی باعث کاهش التهاب سیستمیک، کاهش روند پیری و محافظت از سیستم عصبی در موش‌ها گردید [۴۰]. Bosebabu و همکاران گزارش داده‌اند که سسامول با تعدیل استرس اکسیداتیو و مارکرهای التهابی باعث بهبود شرایط التهابی در سلول‌ها و بافت‌ها می‌شود [۴۱]. در مطالعه دیگری Zhang و همکاران نشان دادند که سسامول با کاهش TNF- α و اینترلوکین ۱ بتا و همین‌طور کاهش مالون دی‌آلدئید و افزایش سوپر اکسید دیسموتاز در هیپوکامپ موش‌های صحرایی، دارای خواص ضد التهابی و نوروپروتکتیو می‌باشد [۴۲]. هم‌چنین Chopra و همکاران گزارش کردند که درمان با سسامول به مدت چهار هفته در موش‌های صحرایی دیابتی مبتلا به درد نوروپاتیک موجب کاهش التهاب و درد نوروپاتیک گردید [۱۷].

کاهش التهاب در بافت منجر به کاهش درد و بهبود روند ترمیم در اعصاب محیطی آسیب‌دیده می‌گردد [۴۳]. از جمله دلایلی که نشان می‌دهد دوزهای مناسب سسامول احتمالاً می‌تواند موجب بهبود التهاب در عصب سیاتیک شود، این است که سسامول بیان واسطه‌های التهابی از جمله TNF- α و اینترلوکین ۱ بتا را کاهش می‌دهد. هم‌چنین اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظتی سسامول باعث تنظیم مسیر بیان ژن‌های Nrf2/Keap1 می‌گردد که یک مسیر اصلی برای آنتی‌اکسیدان‌ها در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن reactive oxygen species (ROS) و سایر رادیکال‌های آزاد مضر برای محافظت از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو، التهاب و آپوپتوز می‌باشد [۴۴]. سسامول احتمالاً می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا را تقویت و بازیابی نماید [۳۴]. به علاوه سسامول می‌تواند نقش مهمی در انتقال اسیدهای چرب و کاتابولیسم لیپیدهای میتوکندری داشته، با افزایش بتا - اکسیداسیون اسیدهای چرب، باعث تولید ATP گشته و احتمالاً انرژی لازم برای رشد آکسون‌ها را فراهم می‌نماید [۴۵-۴۷]. با این حال این موضوع نیاز به مطالعات جامع‌تر و کامل‌تری دارد.

در این مطالعه محدودیت‌هایی وجود داشت. از جمله این محدودیت‌ها تعداد کم نمونه‌ها بود که به همین خاطر تحقیقات بر روی نمونه‌های بیش‌تر لازم است. هم‌چنین بررسی

گزارش کرده‌اند که تجویز سسامول می‌تواند با بازیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا، باعث ترمیم انفارکتوس میوکارد گردد [۳۴]. هم‌چنین مطالعات دیگر نشان داده‌اند که سسامول در سیستم اعصاب مرکزی دارای اثرات محافظت‌کنندگی و درمانی بوده و باعث افزایش سطح NGF مغز می‌گردد [۱۸-۲۰].

در مطالعه حاضر، برای بررسی سایتوکین‌های التهابی، اینترلوکین پیش‌التهابی ۶ و اینترلوکین ضد التهابی ۱۰ و برای بررسی پاسخ‌های رفتاری درد نوروپاتیک، تست‌های آلودینایی مکانیکی و هایپرالژی‌ای حرارتی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هم‌چنین دوزهای ۵۰، ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول به مدت ۲۸ روز پس از ایجاد آسیب به عصب به صورت داخل صفاقی تزریق شد. تعیین دوز مؤثر آنتی‌اکسیدان‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها در دوزهای پایین بی‌اثر هستند و در دوزهای بالا تأثیرات نامطلوب می‌گذارند [۳۵،۳۶]. هدف از انجام مطالعه حاضر این بود که اگر تجویز دوز مناسب سسامول بتواند التهاب و درد را در اعصاب محیطی آسیب‌دیده کاهش دهد، احتمالاً می‌تواند در ترمیم عصب مؤثر بوده و به عنوان یک روش بالینی جدید برای ترمیم این نوع ضایعه عصبی مطرح شود.

نتایج نشان داد که سسامول با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم توانایی کاهش التهاب و درد را در عصب سیاتیک آسیب‌دیده داشت. در حالی که دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول نتوانست باعث کاهش التهاب و پاسخ‌های رفتاری درد شود. این موضوع نشان داد که سسامول احتمالاً مانند بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها وابسته به دوز می‌باشد و در دوزهای بالا تأثیر مطلوبی نمی‌گذارد [۳۷،۳۶].

نتایج این پژوهش با مطالعه مرتبط دیگری بر روی موش سوری مطابقت داشت. Hsu و همکاران ملاحظه کرده‌اند که روغن کنجد با کاهش استرس اکسیداتیو در عصب سیاتیک، باعث بهبود عملکرد آن در موش سوری گردید [۳۸]. هم‌چنین نتایج آلودینایی مکانیکی و هایپرالژی‌ای حرارتی با نتایج به‌دست آمده توسط Chopra و همکاران بر روی موش‌های صحرایی دیابتی مبتلا به درد نوروپاتیک مطابقت داشت [۱۷]. در مطالعه‌ای که Hassanzadeh و همکاران انجام داده‌اند، گزارش کرده‌اند که ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول باعث افزایش سطح NGF در مغز موش‌های صحرایی می‌گردد [۲۰]. به همین دلیل این احتمال وجود داشت که دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول بتواند در ترمیم عصب سیاتیک آسیب‌دیده مؤثر باشد. هر چند که علاوه بر آن، دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سسامول نیز در ترمیم عصب سیاتیک آسیب‌دیده مؤثر بود. اثر مطلوب دوز ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم

maintaining mitochondrial anti-oxidant functions. *Hum Cell* 2019; 32: 251-259.

<https://doi.org/10.1007/s13577-019-00238-4>
PMid:30701373

[7] Sameni HR, Javadinia SS, Safari M, Tabrizi Amjad MH, Khanmohammadi N, Parsaie H, Zarbakhsh S. Effect of quercetin on the number of blastomeres, zona pellucida thickness, and hatching rate of mouse embryos exposed to actinomycin D: An experimental study. *Int J Reprod Biomed (Yazd)* 2018; 16: 101-108. (Persian).
<https://doi.org/10.29252/ijrm.16.2.101>

[8] Zarbakhsh S, Safari R, Sameni HR, Yousefi B, Safari M, Khanmohammadi N, Hayat P. Effects of Co-Administration of bone marrow stromal cells and L-Carnitine on the recovery of damaged ovaries by performing chemotherapy model in rat. *Int J Fertil Steril* 2019; 13: 196-202.

[9] Safari M, Parsaie H, Sameni HR, Aldaghi MR, Zarbakhsh S. Anti-oxidative and anti-apoptotic effects of apigenin on number of viable and apoptotic blastomeres, zona pellucida thickness and hatching rate of mouse embryos. *Int J Fertil Steril* 2018; 12: 257-262.

[10] Guo TZ, Wei T, Huang TT, Kingery WS, Clark JD. Oxidative stress contributes to fracture/cast-induced inflammation and pain in a rat model of complex regional pain syndrome. *J Pain* 2018; 19: 1147-1156.
<https://doi.org/10.1016/j.jpain.2018.04.006>
PMid:29715519 PMCid:PMC6163064

[11] Zhang X, Guan Z, Wang X, Sun D, Wang D, Li Y, et al. Curcumin alleviates oxaliplatin-induced peripheral neuropathic pain through inhibiting oxidative stress-mediated activation of NF-kappaB and mitigating inflammation. *Biol Pharm Bull* 2020; 43: 348-355.
<https://doi.org/10.1248/bpb.b19-00862>
PMid:31776306

[12] Renno WM, Benov L, Khan KM. Possible role of antioxidant capacity of (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment in morphological and neurobehavioral recovery after sciatic nerve crush injury. *J Neurosurg Spine* 2017; 27: 593-613.
<https://doi.org/10.3171/2016.10.SPINE16218>
PMid:28777065

[13] Wang W, Huang CY, Tsai FJ, Tsai CC, Yao CH, Chen YS. Growth-promoting effects of quercetin on peripheral nerves in rats. *Int J Artif Organs* 2011; 34: 1095-1105.
<https://doi.org/10.5301/ijao.5000064>
PMid:22183523

[14] Geetha T, Rohit B, Pal KI. Sesamol: an efficient antioxidant with potential therapeutic benefits. *Med Chem* 2009; 5: 367-371.
<https://doi.org/10.2174/157340609788681476>
PMid:19689394

[15] Cigsar EB, Karadag CA, Tanik C, Aydin AF, Dokucu AI. The protective effects of sesamol in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2020; 33: 889-894.
<https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1506759>
PMid:30058400

[16] Gao XJ, Xie GN, Liu L, Fu ZJ, Zhang ZW, Teng LZ. Sesamol attenuates oxidative stress, apoptosis and inflammation in focal cerebral ischemia/reperfusion injury. *Exp Ther Med* 2017; 14: 841-847.
<https://doi.org/10.3892/etm.2017.4550>
PMid:28673008 PMCid:PMC5488678

[17] Chopra K, Tiwari V, Arora V, Kuhad A. Sesamol suppresses neuro-inflammatory cascade in experimental model of diabetic neuropathy. *J Pain* 2010; 11: 950-957.
<https://doi.org/10.1016/j.jpain.2010.01.006>
PMid:20418182

[18] Cheng FC, Jinn TR, Hou RC, Tzen JT. Neuroprotective effects of sesamin and sesamol in gerbil brain in cerebral ischemia. *Int J Biomed Sci* 2006; 2: 284-288.

مکانیسم‌های مولکولی بر روی نقش سسامول بر التهاب و درد در اعصاب محیطی آسیب‌دیده نیاز به مطالعات بیشتر دارد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز دوزهای مناسب سسامول ممکن است در کاهش التهاب و درد در عصب سیاتیک آسیب‌دیده موش صحرایی نقش داشته و احتمالاً می‌تواند در بهبود روند ترمیم عصب موثر باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بر اساس نتایج طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره ۹-۲۴۶-۱۰-۱ می‌باشد. از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه جهت حمایت مالی از طرح و همکاران محترم مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، گروه علوم تشریحی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی بابت همکاری و تامین تسهیلات لازم برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

مشارکت و نقش نویسندگان

سام زربخش و علی قنبری: ایده و طراحی مطالعه، نسترن عامریان و اطهر طالبی: جمع‌آوری داده‌ها، محبوبه موسوی و حسین علی صفاخواه: آنالیز و تفسیر نتایج، سام زربخش: نگارش نسخه اول مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

- [1] Zhou G, Chang W, Zhou X, Chen Y, Dai F, Anwar A, Yu X. Nanofibrous nerve conduits with nerve growth factors and bone marrow stromal cells pre-cultured in bioreactors for peripheral nerve regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020; 12: 16168-16177.
<https://doi.org/10.1021/acsami.0c04191>
PMid:32182427
- [2] Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell Biochem Biophys* 2014; 68: 449-454.
<https://doi.org/10.1007/s12013-013-9742-1>
PMid:24037713
- [3] Kubo T, Randolph MA, Groger A, Winograd JM. Embryonic stem cell-derived motor neurons form neuromuscular junctions in vitro and enhance motor functional recovery in vivo. *Plast Reconstr Surg* 2009; 123: 139S-148S.
<https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181923d07>
PMid:19182673
- [4] Gaudin R, Knipfer C, Henningsen A, Smeets R, Heiland M, Hadlock T. Approaches to peripheral nerve repair: generations of biomaterial conduits yielding to replacing autologous nerve grafts in craniomaxillofacial surgery. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 3856262.
<https://doi.org/10.1155/2016/3856262>
PMid:27556032 PMCid:PMC4983313
- [5] Gordon T. Electrical stimulation to enhance axon regeneration after peripheral nerve injuries in animal models and humans. *Neurotherapeutics* 2016; 13: 295-310.
<https://doi.org/10.1007/s13311-015-0415-1>
PMid:26754579 PMCid:PMC4824030
- [6] Wu P, Chen Y. Evodiamine ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain by inhibiting inflammation and

- 61: 306-316.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.05.034>
 PMid:29909234
- [32] Ghadge GA, Gourishetti K, Chamallamudi MR, Nampurath GK, Nandakumar K, Kumar N. Sesamol protects MIN6 pancreatic beta cells against simvastatin-induced toxicity by restoring mitochondrial membrane potentials. *3 Biotech* 2020; 10: 149.
<https://doi.org/10.1007/s13205-020-2146-1>
 PMid:32181111 PMCID:PMC7052092
- [33] Chandrasekaran VR, Hsu DZ, Liu MY. The protective effect of sesamol against mitochondrial oxidative stress and hepatic injury in acetaminophen-overdosed rats. *Shock* 2009; 32: 89-93.
<https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e31818ede6f>
 PMid:18948843
- [34] Vennila L, Pugalendi KV. Protective effect of sesamol against myocardial infarction caused by isoproterenol in Wistar rats. *Redox Rep* 2010; 15: 36-42.
<https://doi.org/10.1179/174329210X12650506623168>
 PMid:20196927 PMCID:PMC7067323
- [35] Khanmohammadi N, Movahedin M, Safari M, Sameni HR, Yousefi B, Jafari B, Zarbakhsh S. Effect of L-carnitine on in vitro developmental rate, the zona pellucida and hatching of blastocysts and their cell numbers in mouse embryos. *Int J Reprod Biomed (Yazd)* 2016; 14: 649-656. (Persian).
<https://doi.org/10.29252/ijrm.14.10.649>
- [36] Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev* 2012; 70: 257-265.
<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x>
 PMid:22537212
- [37] Zarbakhsh S. Effect of antioxidants on preimplantation embryo development in vitro: a review. *Zygote* 2021; 1-15.
<https://doi.org/10.1017/S0967199420000660>
 PMid:33441217
- [38] Hsu CC, Huang HC, Wu PT, Tai TW, Jou IM. Sesame oil improves functional recovery by attenuating nerve oxidative stress in a mouse model of acute peripheral nerve injury: role of Nrf-2. *J Nutr Biochem* 2016; 38: 102-106.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.09.003>
 PMid:27732910
- [39] Parihar VK, Prabhakar KR, Veerapur VP, Kumar MS, Reddy YR, Joshi R, et al. Effect of sesamol on radiation-induced cytotoxicity in Swiss albino mice. *Mutat Res* 2006; 611: 9-16.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.06.037>
 PMid:17045515
- [40] Ren B, Yuan T, Zhang X, Wang L, Pan J, Liu Y, et al. Protective effects of sesamol on systemic inflammation and cognitive impairment in aging mice. *J Agric Food Chem* 2020; 68: 3099-3111.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07598>
 PMid:32067456
- [41] Bosebabu B, Cheruku SP, Chamallamudi MR, Nampoothiri M, Shenoy RR, Nandakumar K, et al. An appraisal of current pharmacological perspectives of sesamol: A Review. *Mini Rev Med Chem* 2020; 20: 988-1000.
<https://doi.org/10.2174/1389557520666200313120419>
 PMid:32167426
- [42] Zhang P, Wang Y, Wang H, Cao J. Sesamol alleviates chronic intermittent hypoxia-induced cognitive deficits via inhibiting oxidative stress and inflammation in rats. *Neuroreport* 2021; 32: 105-111.
<https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001564>
 PMid:33323839
- [43] Sommer C, Leinders M, Uceyler N. Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain. *Pain* 2018; 159: 595-602.
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001122>
 PMid:29447138
- [19] Hong BY, Kim JS, Lee KB, Lim SH. The effect of sesamol on rats with ischemic stroke. *J Phys Ther Sci* 2015; 27: 1771-1773.
<https://doi.org/10.1589/jpts.27.1771>
 PMid:26180317 PMCID:PMC4499980
- [20] Hassanzadeh P, Hassanzadeh A. Implication of NGF and endocannabinoid signaling in the mechanism of action of sesamol: a multi-target natural compound with therapeutic potential. *Psychopharmacology (Berl)* 2013; 229: 571-578.
<https://doi.org/10.1007/s00213-013-3111-z>
 PMid:23624775
- [21] Liu Z, Sun Y, Qiao Q, Zhao T, Zhang W, Ren B, et al. Sesamol ameliorates high-fat and high-fructose induced cognitive defects via improving insulin signaling disruption in the central nervous system. *Food Funct* 2017; 8: 710-719.
<https://doi.org/10.1039/C6FO01562J>
 PMid:28102395
- [22] VanGilder RL, Kelly KA, Chua MD, Ptachcinski RL, Huber JD. Administration of sesamol improved blood-brain barrier function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Brain Res* 2009; 197: 23-34.
<https://doi.org/10.1007/s00221-009-1866-6>
 PMid:19565232
- [23] Raducan A, Mirica S, Duicu O, Raducan S, Muntean D, Fira-Mladinescu O, Lighezan R. Morphological and functional aspects of sciatic nerve regeneration after crush injury. *Rom J Morphol Embryol* 2013; 54: 735-739.
- [24] Onger ME, Kaplan S, Deniz OG, Altun G, Altunkaynak BZ, Balci K, et al. Possible promoting effects of melatonin, leptin and alcar on regeneration of the sciatic nerve. *J Chem Neuroanat* 2017; 81: 34-41.
<https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.003>
 PMid:28163216
- [25] Safakhah HA, Moradi Kor N, Bazargani A, Bandegi AR, Gholami Pourbadie H, Khoshkholgh-Sima B, Ghanbari A. Forced exercise attenuates neuropathic pain in chronic constriction injury of male rat: an investigation of oxidative stress and inflammation. *J Pain Res* 2017; 10: 1457-1466.
<https://doi.org/10.2147/JPR.S135081>
 PMid:28721088 PMCID:PMC5499951
- [26] Naderi Tehrani M, Heydari A, Nasrollahi S, Esmaili Z, Hamidi G. Effect of acute caffeine administration on hyperalgesia and allodynia in a rat neuropathic pain model. *Koomesh* 2020; 22: 334-340. (Persian).
<https://doi.org/10.29252/koomesh.22.2.334>
- [27] Safakhah HA, Jarrahi M, Rashidy-pour A, Bandegi AR, Khazani F. Combined effect of chronic progesterone administration with compulsive exercise on prevention of TNF- α production and abnormal electrophysiological responses of sciatic nerve in Chronic Constriction injury pain model in rat. *Koomesh* 2021; 23: 95-104. (Persian).
<https://doi.org/10.29252/koomesh.23.1.95>
- [28] Ghanbari A, Shahsavani F, Safakhah HA. Evaluation of new method to induce neuritis and comparison its symptoms with current chronic constriction injury method in male rat. *Koomesh* 2021; 23: 117-123. (Persian).
<https://doi.org/10.29252/koomesh.23.1.117>
- [29] Zychowska M, Rojewska E, Makuch W, Luvisetto S, Pavone F, Marinelli S, et al. Participation of pro- and anti-nociceptive interleukins in botulinum toxin A-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2016; 791: 377-388.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.09.019>
 PMid:27619001
- [30] Carullo G, Cappello AR, Frattaruolo L, Badolato M, Armentano B, Aiello F. Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management. *Future Med Chem* 2017; 9: 79-93.
<https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0186>
 PMid:27995808
- [31] Ullah MZ, Khan AU, Afridi R, Rasheed H, Khalid S, Naveed M, et al. Attenuation of inflammatory pain by puerarin in animal model of inflammation through inhibition of pro-inflammatory mediators. *Int Immunopharmacol* 2018;

via activating hepatic PKA pathway. *Nutrients* 2020; 12.

<https://doi.org/10.3390/nu12020329>

PMid:31991934 PMCID:PMC7071159

[47] Nayak PG, Paul P, Bansal P, Kutty NG, Pai KS. Sesamol prevents doxorubicin-induced oxidative damage and toxicity on H9c2 cardiomyoblasts. *J Pharm Pharmacol* 2013; 65: 1083-1093.

<https://doi.org/10.1111/jphp.12073>

PMid:23738736

[44] Ren B, Yuan T, Diao Z, Zhang C, Liu Z, Liu X.

Protective effects of sesamol on systemic oxidative stress-induced cognitive impairments via regulation of Nrf2/Keap1 pathway. *Food Funct* 2018; 9: 5912-5924.

<https://doi.org/10.1039/C8FO01436A>

PMid:30375618

[45] Lin Z, Liu F, Shi P, Song A, Huang Z, Zou D, et al. Fatty acid oxidation promotes reprogramming by enhancing oxidative phosphorylation and inhibiting protein kinase C. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9: 47.

<https://doi.org/10.1186/s13287-018-0873-6>

<https://doi.org/10.1186/s13287-018-0792-6>

PMid:29482657 PMCID:PMC5937047

[46] Xu HY, Yu L, Chen JH, Yang LN, Lin C, Shi XQ, Qin H. Sesamol alleviates obesity-related hepatic steatosis

Effects of sesamol on behavioral responses of neuropathic pain and the expression of interleukins 6 and 10 in the damaged sciatic nerve of rats

Nastaran Amerian (M.Sc)^{2,1}, Athar Talebi (M.Sc)¹, Mahboubeh Mousavi (Ph.D)², Ali Ghanbari (Ph.D)³, Hossein Ali Safakhah (M.Sc)³, Sam Zarbakhsh (Ph.D)^{*2,1}

1 - Nervous System Stem Cells Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

2 - Dept. of Anatomy, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3- Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 23 33654218 szarbaksh@yahoo.com

Received: 7 Apr 2021 ; Accepted: 15 Jun 2021

Introduction: Peripheral nerve damage is a clinical problem that causes sensory and motor disabilities. Sesamol is an antioxidant that can be effective in repairing various organs. The aim of this study was to evaluate the effect of different doses of sesamol on inflammation and pain in the damaged rat sciatic nerve.

Materials and Methods: In this study, 35 adult male Wistar rats were used. The rats were randomly divided into five groups: The sham group without crush injury, the control group and three experimental groups respectively received DMSO (solvent) and doses of 50, 100, or 200 mg/kg sesamol intraperitoneally for 28 days after sciatic nerve injury. Then behavioral pain tests including mechanical allodynia and thermal hyperalgesia as well as inflammatory factors including interleukins 6 and 10 in the sciatic nerve were evaluated.

Results: The results showed that administration of 50 and 100 mg/kg of sesamol significantly decreased expression of interleukin 6, and increased expression of interleukin 10, the retraction threshold in the mechanical allodynia test and the response time to thermal pain in the thermal hyperalgesia test in the damaged sciatic nerve than the control group ($P<0.05$). While administration of 200 mg/kg sesamol had no significant effect.

Conclusion: Administration of 50 and 100 mg/kg sesamol may reduce inflammation and pain in the rat damaged sciatic nerve which may help improve the nerve repair process.

Keywords: Interleukin 6, Interleukin 10, Pain, Sesamol, Sciatic Nerve, Rat