



بررسی اثرات هم‌افزایی نانوذرات سریم اکسید و اوژنول بر بازیابی عملکرد نورون‌های حسی و حرکتی ناشی از کمپرس عصب سیاتیک در موش‌های صحرایی

سهیلا عالی پور^۱، فریبا محمودی^{۲*}، آرش عبدالملکی^۳، خدیجه حقیقت^۴

چکیده

مقدمه: بهبود آسیب اعصاب محیطی یکی از چالش‌های مهم از نظر کلینیکی است. استفاده از روش‌های نوین مثل نانو داروها و ترکیبات طبیعی به دلیل اثرات موثر و عوارض جانبی کمتر می‌تواند گزینه مناسبی باشد. در این مطالعه اثرات سینرژیستی نانوذرات سریم اکسید و اوژنول در بازیابی عصب سیاتیک در مدل موش صحرایی بررسی شد. **مواد و روش:** بیست و هشت موش صحرایی با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم به چهار گروه تقسیم شدند ($n=7$) به گروه کنترل و مدل سیاتیک سالین (۰.۵ml) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. همچنین دو گروه مدل سیاتیک به ترتیب (۵۰mg/kg اوژنول و ۲۰mg/kg نانوذرات سریم اکسید) یا (۱۰۰mg/kg اوژنول و ۲۰mg/kg نانوذرات سریم اکسید) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. سپس تست‌های رفتاری حسی و حرکتی انجام شد. بافت عضله خارج شد و در نهایت تغییرات وزن بافت عضله بررسی شد. همه مراحل آزمایش حیوانی مطابق با کمیته اخلاق دانشگاه محقق اردبیلی با کد (IR.UMA.REC. 1400.033) انجام شد. **نتایج:** تزریق داخل صفاقی اوژنول همراه با نانوذرات سریم اکسید باعث افزایش سرعت بازیابی عملکرد نورون‌های حسی و حرکتی نسبت به گروه مدل سیاتیک شد. همچنین در گروه دریافت کننده اوژنول و نانوذرات سریم اکسید میزان آتروفی عضلات کمتر بود. بهبود بافت عصبی در گروه با دوز بالا معنی دار بود. **نتیجه‌گیری کلی:** نتایج حاصل نشان داد اوژنول و نانوذرات سریم اکسید باعث سرعت بهبود بافت عصبی می‌شود. بنابراین از پتانسیل محافظت عصبی آنها می‌توان برای درمان بیماری‌های مربوط به آسیب اعصاب محیطی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اوژنول، سریم اکسید، سیاتیک، نانوذرات

۱- دانشجوی ارشد، فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(* نویسنده مسئول، F.mahmoudi@uma.ac.ir)

۳- دانشیار، گروه بیوانفورماتیک، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران

۴- دانشجوی دکتری، فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

سیاتیک اختلال شایع ناتوان کننده است که در آن بیمار درد ناشی از آسیب به ریشه عصبی لومبوساکرال را تجربه می‌کند. عصب سیاتیک با قطر ۲ سانتی متر بزرگترین عصب بدن است. عصب سیاتیک عملکرد حرکتی مستقیم برای عضلات ساق پا، عضلات قدامی ساق پا و برخی از عضلات پا را فراهم می‌کند (Mishra et al., 2010). اختلال سیاتیک می‌تواند در اثر التهاب یا فشرده شدن ریشه‌های عصبی لومبوساکرال (L4-S1) ایجاد شود که عصب سیاتیک را تشکیل می‌دهد. شیوع سیاتیک بین افراد متفاوت است (Poutoglidou et al., 2020). در یک مطالعه ای گزارش کردند که حدود ۶۰ درصد از بیماران مبتلا به کمردرد و پا درد از نظر بالینی مبتلا به سیاتیک هستند (Jensen et al., 2019). اختلال سیاتیک می‌تواند باعث ناراحتی شدید و محدودیت عملکردی شود. این اختلال بیشتر بر اساس علائم هنگام معاینه پزشکی تشخیص داده می‌شود. در صورت وجود سابقه پا درد، کمردرد یا درد زیر زانو باید مشکوک به سیاتیک شد (Ostelo, 2020). درد سیاتیک در امتداد یک خط در پشت باسن احساس می‌شود اگر درد ریشه عصبی تا زیر زانو گسترش یابد، منشا آن با آسیب ریشه نخاعی مطابقت دارد. سیاتیک معمولاً یک طرفه است و ممکن است درد دو طرفه نیز وجود داشته باشد (Valat et al., 2010). با اینکه تاکنون درمان قطعی برای اختلال سیاتیک تشخیص داده نشده است اما رایج ترین درمان اولیه، کنترل درد با استفاده از دارو و فیزیوتراپی است. فعالیت معمولاً متناسب با میزان ناراحتی محدود می‌شود. اگرچه اغلب استراحت توصیه می‌شود، اما در بیمارانی که قادر به ادامه فعالیت هستند فعالیت بدنی مفید است (Fernandez et al., 2015). استفاده از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی ممکن است باعث تسکین کوتاه مدتی برای کمردرد و درد سیاتیک شود. با این حال در برخی موارد هم گزینه جراحی برای درمان سیاتیک در نظر گرفته می‌شود (Pinto et al., 2012). با اینکه اثرات اوژنول (Alypoor et al., 2023) و نانو ذره سریم اکسید (Soluki et al., 2020) به تنهایی برای اختلال سیاتیک بررسی شده است ولی تاکنون اثرات تزریق هم زمان اوژنول و نانوذرات سریم اکسید مطالعه نشده بود. به همین دلیل این تحقیق با هدف اینکه آیا این دو ترکیب می‌توانند اثرات مفید همدیگر را تقویت کنند، انجام گرفت.

امروزه استفاده از نانوداروها برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد توجه محققان زیادی قرار گرفته است. نانوداروها به دلیل اندازه کوچک و انتقال هدفمند آنها به بافت مورد نظر در زمینه پزشکی بسیار ارزشمند هستند (Beltrán-Gracia et al., 2019). نانوذرات اکسید سریم خواص قوی آنتی اکسیدانی در مهار رادیکال آزاد دارد. با توجه به اینکه رادیکال‌های آزاد نقش برجسته ای در ایجاد بسیاری از بیماری‌های عصبی دارند، اثر نانوذرات سریم اکسید به عنوان یک عامل درمانی بالقوه در بهبود بیماری‌ها در برخی از مطالعات گزارش شده است (Estevez et al., 2011; Hekmatimoghaddam et al., 2019). همچنین گیاهان دارویی از زمان‌های قدیم به عنوان دارو به طور سنتی مورد استفاده قرار گرفته اند. به دلیل کارایی بالا، هزینه و عوارض جانبی

کمتر، داروهای تولید شده از گیاهان، امروزه رو به گسترش است (Babazadeh *et al.*, 2023). اوژنول یک ترکیب فعال زیستی است که به طور گسترده در بسیاری از گیاهان مانند میخک، دارچین، فلفل و غیره وجود دارد. اوژنول فواید بیولوژیکی زیادی مانند فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، نوروپروتکتیو، ضد سرطانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و حشره کشی دارد (Taleuzzaman *et al.*, 2021). در این مطالعه نیز پتانسیل نوروپروتکتیو اوژنول / سریم اکسید در بازیابی عصب سیاتیک در مدل موش‌های صحرایی بررسی شد.

مواد و روش

برای این مطالعه اوژنول از (Sigma Aldrich, Co, USA)، توسط شرکت سفیر آزما و نانوذرات سریم اکسید از (US-NANO Co, USA، توسط شرکت نانو گستر سپاهان) خریداری شدند. همچنین بیست و هشت موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد. موش‌های صحرایی در دمای 25°C با دسترسی آزاد به آب و غذا در آزمایشگاه نگهداری شدند. شرایط چرخه نوری ۱۲ ساعت تاریکی / ۱۲ ساعت روشنایی در نظر گرفته شد.

درمان و گروه بندی حیوان

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم به چهار گروه (n=7) تقسیم شدند. گروه کنترل (بدون آسیب عصب سیاتیک) و مدل سیاتیک (جراحی شده) سالین (۰.۵ ml) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. همچنین، به دو گروه مدل سیاتیک به ترتیب دوزهای (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) به صورت داخل صفاقی به مدت یک هفته تزریق شد (Soluki *et al.*, 2020; Barot *et al.*, 2021). تمام تزریقات بین ساعت ۹ الی ۱۱ صبح انجام گرفت.

القای آسیب ناشی از کمپرس عصب سیاتیک^۱

ابتدا موش‌های صحرایی با مخلوط کتامین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین با دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. سپس با شکافتن لایه عضلانی گاستروکنمیوس پا راست به اندازه ۲ سانتی‌متر، عصب سیاتیک آشکار گردید. قطعه‌ای از عصب در محل بالای سه شاخه شدن، جهت مدل‌سازی تجربی آسیب عصب سیاتیک، کمپرس شد. در نهایت لایه عضلانی و پوست بخیه شد (Azimpour *et al.*, 2022). پس از جراحی برای جلوگیری از عفونت از پماد آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین ۳ درصد استفاده گردید. همچنین، برای کاهش درد به مدت دو روز پس از جراحی بوپرنورفین (۱ mg/kg) تزریق شد.

¹ Sciatic nerve compression injury

آزمون پیاده روی^۲ و تعیین شاخص عملکردی عصب سیاتیک^۳

همه حیوانات قبل از عمل و بعد از عمل در هفته‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ تحت آزمون مسیر پیاده روی قرار گرفتند پنجه‌های عقب حیوان با جوهر رنگ شدند. به حیوان اجازه داده شد تا آزادانه در امتداد راهروی با ابعاد ۲۵ × ۱۰ × ۱۰۰ سانتی‌متر حرکت کند. سپس اثر ردپا موش‌های صحرایی برای تعیین شاخص عملکرد (SFI) ثبت گردید. ضایعه عصبی قطع شده به عنوان ۱۰۰- و گروه کنترل (گروه بدون آسیب عصب) به عنوان صفر تعریف شد. ترمیم عصب زمانی بهتر انجام می‌شود که SFI به صفر نزدیک‌تر شود (Azimpour et al., 2022).

آزمون بازیابی حسی

برای ارزیابی آستانه درد حرارتی و میزان بازیابی عملکردی نورون‌های حسی، تست صفحه‌ی داغ انجام شد. طوریکه موش‌های صحرایی به طور جداگانه بر روی صفحه داغ با دمای 52 ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. تاخیر پاسخ به طور پرش پنجه عقبی ثبت شد. تاخیر پاسخ با یک کروномتر به صورت دستی ثبت گردید. این آزمون سه مرتبه با فاصله زمانی دو دقیقه تکرار شد، سپس میانگین زمان‌های تاخیر ثبت گردید. همچنین برای جلوگیری آسیب، زمان قطع آزمایش ۱۲ ثانیه در نظر گرفته شد (Azimpour et al., 2022).

تعیین وزن عضله گاستروکنمیوس

در پایان هفته هشتم عضله گاستروکنمیوس پای راست (جراحی شده) و پای چپ (بدون آسیب عصب) جدا شد. سپس وزن مرطوب عضله گاستروکنمیوس بدست آمد. سپس نسبت توده عضلانی گاستروکنمیوس یعنی نسبت وزن عضله سمت راست به وزن عضله سمت چپ محاسبه شد (Azimpour et al., 2022).

آنالیز آماری

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 23) و آنوای یک طرفه آنالیز شدند. همچنین آزمون تعقیبی توکی جهت تفکیک معنی دار بودن بین گروه‌های مختلف استفاده شد. سطح معنی‌داری ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین داده \pm انحراف معیار بیان شد.

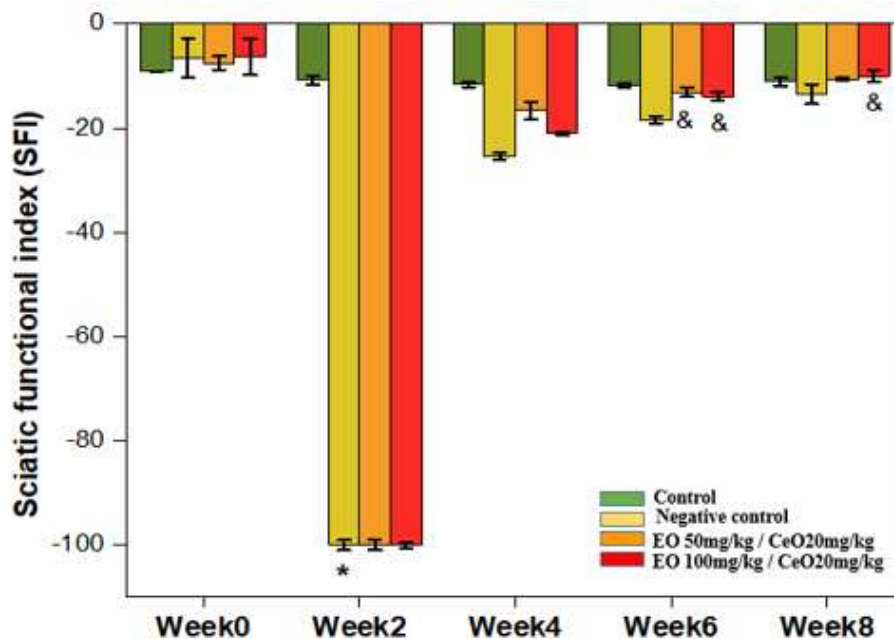
² Walking Track

³ Sciatic Functional Index (SFI)

نتایج

بررسی شاخص عملکردی عصب سیاتیک (SIF)

همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است در هفته ۲ شاخص عملکرد عصب سیاتیک در گروه کنترل منفی (مدل سیاتیک) نسبت به کنترل کاهش معنی داری یافت ($P \leq 0.05$). در حالی که از هفته دوم به بعد کاهش شاخص عملکرد سیاتیک نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. تزریق (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) در هفته ۲ باعث افزایش شاخص عملکرد سیاتیک نشد. در هفته ۴ افزایش در شاخص عملکرد سیاتیک در گروه دریافت کننده (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) نسبت به کنترل منفی مشاهده شد اما معنی دار نبود. در هفته ۶ تزریق (۵۰ اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) باعث بهبود شاخص عملکرد سیاتیک نسبت به کنترل منفی شد ($P \leq 0.05$). در نهایت در پایان هفته ۸ در موش‌های صحرائی دریافت کننده (۵۰ اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) نسبت به کنترل منفی بهبود بیشتری در شاخص عملکرد سیاتیک مشاهده شد

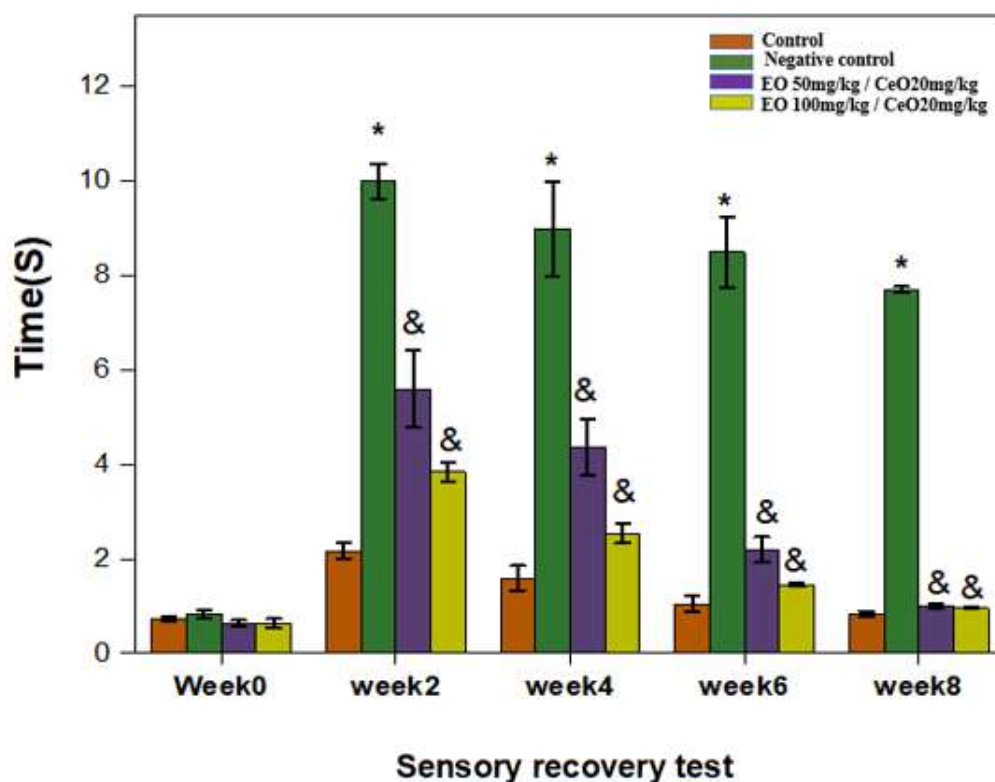


شکل ۱- شاخص عملکردی عصب سیاتیک در هفته های مختلف پس از عمل جراحی. نتایج حاصل به صورت میانگین داده‌ها \pm انحراف معیار ارائه شدند ($P \leq 0.05$): * در مقایسه با کنترل؛ & در مقایسه با کنترل منفی. (واحد اوژنول و نانوذره mg/kg).

Figure 1. Sciatic functional index (SFI) in different weeks after surgery. The results are presented as mean \pm standard deviation of the mean (SEM) ($p < 0.05$). *: compared to control; &: compared to negative control.

ارزیابی میزان بهبود عملکرد حسی توسط آزمون صفحه داغ

داده‌های حاصل نشان داد در همه گروه‌های موش‌های صحرایی از هفته دوم به بعد بهبود مشاهده شد. در هفته ۲ در گروه‌های تحت درمان با (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) بهبود عملکرد حسی نسبت به گروه کنترل منفی بهتر بود ($P \leq 0.05$). همچنین در هفته ۴ بهبود عملکرد حسی بهتری در گروه‌های تحت درمان با (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) نسبت به گروه کنترل منفی مشاهده شد ($P \leq 0.05$). در هفته ۶ در گروه‌های دریافت کننده (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) نسبت به کنترل منفی بهبود عملکرد حسی افزایش یافت ($P \leq 0.05$). در نهایت بیشترین بهبود عملکرد حسی در پایان هفته ۸ در هر دو گروه موش‌های صحرایی دریافت کننده (۵۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (۱۰۰ mg/kg اوژنول / ۲۰ mg/kg نانوذرات سریم اکسید) ($p = 0.02$) نسبت به گروه کنترل منفی حاصل شد ($P \leq 0.05$) (شکل ۲).

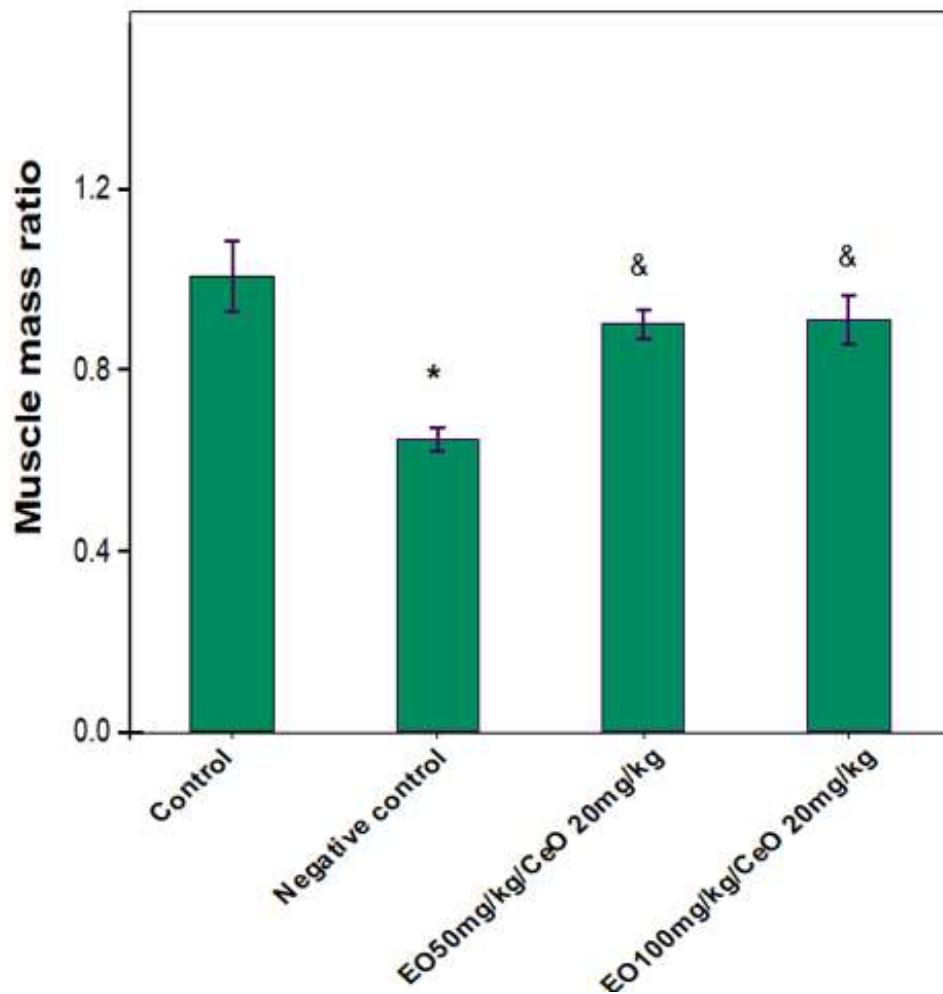


شکل ۲- بازیابی عملکرد حسی در هفته‌های مختلف پس از عمل جراحی. نتایج حاصل به صورت میانگین داده‌ها \pm انحراف معیار ارائه شدند ($P < 0.05$).
 (*: در مقایسه با کنترل؛ &: در مقایسه با کنترل منفی). (واحد اوژنول و نانوذره mg/kg).

Figure 2. Recovery of sensory function in different weeks after surgery. The results are presented as mean \pm standard deviation of the mean (SEM) ($p < 0.05$). *: compared to control; &: compared to negative control

بررسی توده عضله گاستروکنیموس

نتایج نشان داد که توده عضلانی در کنترل منفی نسبت به کنترل کاهش معنی داری یافت ($P \leq 0.05$). همچنین تزریق اوژنول/نانوذرات سریم اکسید باعث افزایش معنی داری در توده عضلانی نسبت به کنترل منفی شد. افزایش در هر دو گروه موش‌های صحرائی دریافت کننده (50 mg/kg اوژنول / 20 mg/kg نانوذرات سریم اکسید) و (100 mg/kg اوژنول / 20 mg/kg نانوذرات سریم اکسید) معنی دار بود ($P \leq 0.05$) (شکل ۳).



شکل ۳- نسبت توده عضلانی ۸ هفته پس از عمل جراحی. نتایج حاصل به صورت میانگین داده‌ها \pm انحراف معیار ارائه شدند ($P \leq 0.05$): * در مقایسه با کنترل؛ & در مقایسه با کنترل منفی. (واحد اوژنول و نانوذره mg/kg).

Figure 3. Muscle mass ratio 8 weeks after surgery. The results are presented as mean \pm standard deviation of the mean (SEM) ($p < 0.05$). *: compared to control; &: compared to negative control.

بحث

نتایج حاصل نشان داد که در گروه مدل سیاتیک نسبت به گروه کنترل شاخص عملکرد سیاتیک و عملکرد حسی کاهش می‌یابد. همچنین آتروفی عضلانی در موش‌های صحرائی که جراحی شده بودند نسبت به کنترل بیشتر بود. این نتایج مطابق با

یافته‌های پیشین بود (Kizilay *et al.*, 2019). تزریق نانوذرات سریم اکسید/ اوژنول به موش‌های صحرایی مدل سیاتیک باعث افزایش شاخص عملکرد سیاتیک و بازیابی عصب سیاتیک شد. همچنین در موش‌های دریافت کننده نانوذرات سریم اکسید/ اوژنول میزان آتروفی عضلانی کاهش یافته بود.

اختلال سیاتیک در اثر آسیب به اعصاب محیطی ایجاد می‌شود که می‌تواند باعث ایجاد درد در قسمت خلفی و جانبی ساق پا و قسمت کف می‌شود. اختلال سیاتیک مهم است که تشخیص داده شود ناشی از یک بیماری التهابی است یا بر اثر فشرده شدن مستقیم عصب رخ می‌دهد. در صورت تشخیص درست اقدامات درمانی مناسب نیز صورت می‌گیرد. (Davis *et al.*, 2022). با این حال اختلال سیاتیک اغلب به دلیل التهاب بافت عصب است. طیف وسیعی از پروتئین‌های پیش التهابی از جمله اینترلوکین‌های 1, IL-6, IL-8 و فاکتور نکروز تومور α -TNF در سرم افراد مبتلا به سیاتیک افزایش می‌یابد. همچنین مشاهده شده است که افزایش رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجر به وخیم شدن عصب آسیب دیده شود (Jungen *et al.*, 2019). تشخیص سیاتیک برای مدیریت درمان مهم است. اقدامات اولیه برای درمان شامل استراحت و استفاده از داروهای ضد التهابی است (Van *et al.*, 2010). اما هیچکدام از این اقدامات برای درمان کامل اختلال سیاتیک کافی نیست. بنابراین ضروری است که برای شناسایی دارو و درمان آسیب عصب محیطی در همه زمینه‌ها مطالعاتی صورت گیرد. لذا در این تحقیق نیز رویکرد فناوری نانو و ترکیب گیاهی برای بررسی اختلال سیاتیک در نظر گرفته شده است.

امروزه استفاده از فناوری نانو در پزشکی گسترش یافته است. نانوداروها به عنوان رویکرد درمانی جدید به دلیل برخی از ویژگی‌های خاص مثل اثربخشی بیشتر با دوز کمتر و انتقال هدفمند به بافت‌ها نسبت به داروهای شیمیایی مورد توجه محققان قرار گرفته است. مطالعات پیشین نشان داده است که نانوذرات سریم اکسید دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند که قادر به حذف انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) در مدل‌های سلولی و حیوانی هستند (Nelson *et al.*, 2016). همچنین نانوذرات سریم اکسید خواص ضد التهابی از خود نشان می‌دهند که در درمان بیماری‌های التهابی ارزشمند است. بنابراین، بیشتر کاربردهای درمانی نانوذرات سریم اکسید بر اساس توانایی آنها در کاهش سطوح واسطه‌های التهابی مانند نیتریک اکسید سنتاز القایی (iNOS)، فاکتور هسته ای کاپا (NF-KB)، فاکتور نکروز تومور α (TNF- α) و اینترلوکین‌ها است (Oró *et al.*, 2016). اخیراً در مطالعه ای اثرات نوروپروتکتیو نانوذرات سریم اکسید در بهبود اعصاب محیطی گزارش شده است (Soluki *et al.*, 2020). علاوه بر این، اثرات سایر نانوذرات نیز بر روی سیاتیک مطالعه شده است. نتایج یک مطالعه نشان می‌دهد که ترکیب نانوذره طلا و (Brain Derived Neurotrophic Growth Factor (BDNF)) باعث بازسازی اعصاب محیطی در موش‌های صحرایی شده است (Jahromi *et al.*, 2021). همچنین در مطالعه دیگر اثر نانوذرات کبات و طلا بر ترمیم بافت عصبی گزارش شده است (Hazer Rosberg *et al.*, 2021).

اوژنول (۴-آلیل-۲-متوکسی فنول) یک ترکیب معطر است که دارای فعالیت ضد تشنج و ضد میکروبی نیز است. علاوه بر این، فعالیت‌های ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی اوژنول شناخته شده است. مجموعه‌ای از شواهد نشان می‌دهد که اوژنول می‌تواند با افزایش بیان ژن فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در هیپوکامپ در پیشگیری بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی مانند آلزایمر، پارکینسون و افسردگی نقش داشته باشد (Irie *et al.*, 2006). یافته‌ها نشان می‌دهد که مکانیسم حفاظتی اوژنول ممکن است تا حدی به کاهش تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی از طریق تنظیم التهاب و وضعیت ردوکس نسبت داده شود (Huang *et al.*, 2015). داده‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهند که این ترکیبات با سیگنال‌دهی TNF که منجر به فعال‌سازی NF-κB می‌شود، تداخل می‌کنند (Magalhães *et al.*, 2019; de Araújo Lopes *et al.*, 2018). همچنین مطالعات پیشین نشان داده‌اند اوژنول از طریق تنظیم مسیرهای پیام‌رسان NF-κB، از جمله کیناز ERK1/2، I-κBα، p38، بیان iNOS را مهار می‌کند (Choi *et al.*, 2007).

با توجه به اینکه آسیب عصب محیطی اغلب به دلیل التهاب رخ می‌دهد بنابراین مسیرهای التهابی در ایجاد آن می‌توانند نقش مهمی داشته باشند. مطالعه پیشین نیز نشان داده است که در افراد مبتلا به سیاتیک فاکتورهای پیش‌التهابی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابند. همچنین در مطالعه‌ای که روی موش‌های صحرایی مدل سیاتیک انجام شده بود تایید شد که سرب اکسید باعث کاهش فاکتورهای التهابی و بهبود نورون‌های حسی و حرکتی می‌شود (Soluki *et al.*, 2020). همچنین در تحقیق دیگری تزریق اوژنول به موش‌های صحرایی باعث ترمیم بافت عصبی شده است که خواص نوروپروتکتیو آن را تایید می‌کند (Alminderej *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2018). نتایج ما نیز نشان داد که تزریق اوژنول / سرب اکسید به موش‌های صحرایی مدل سیاتیک باعث بهبود عملکرد عصب سیاتیک شد. داروها می‌توانند اثرات خود را از مسیرهای واسطه‌ای مختلفی اعمال کنند. (Cui *et al.*, 2019). با توجه به اینکه یافته‌های پیشین ثابت کرده‌اند اعمال اثر اوژنول از طریق مسیرهای واسطه‌ای مختلفی صورت می‌گیرد. در این مطالعه نیز پیشنهاد می‌شود که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های عمل اوژنول / سرب اکسید از طریق تنظیم مسیر التهابی و NF-κB صورت می‌گیرد. فرض بر این است که اوژنول / سرب اکسید با کاهش فاکتورهای التهابی و مهار مسیر NF-κB باعث بازیابی عصب سیاتیک در موش‌های صحرایی می‌شود. تحقیق در مورد عمل اوژنول / سرب اکسید توسط هر کدام از این مسیرهای واسطه‌ای برای مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج یافته‌های حاصل نشان داد که در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده نانوذرات سرب اکسید و اوژنول بازیابی عصب سیاتیک با سرعت بیشتری رخ داد. با توجه به اینکه در تحقیق قبلی اثرات اوژنول و نانوذره سرب اکسید در بازیابی نورون‌های حسی و حرکتی در مدل سیاتیک مشاهده شده بود. در این تحقیق نیز تزریق همزمان اوژنول و نانوذرات سرب اکسید به

صورت هم افزایی شاخص عملکرد سیاتیک و بهبود عصب سیاتیک را افزایش داد. در نتیجه این ترکیب دارویی به عنوان یک گزینه درمانی برای آسیب اعصاب محیطی پیشنهاد می‌شود. همچنین برای تجویز انسانی نیازمند مطالعات بیشتر در این مورد است.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه محقق اردبیلی جهت حمایت مالی از این مقاله کمال تشکر و قدردانی را دارد.

عدم تعارض منافع

هیچگونه تضاد منافی وجود ندارد.

منابع

- Alminderej, F., Bakari, S., Almundarij, T. I., Snoussi, M., Aouadi, K. and Kadri, A. (2020). Antioxidant activities of a new chemotype of *Piper cubeba* L. fruit essential oil (Methyleugenol/Eugenol). In *Silico molecular docking and ADMET studies Plants*, 9(11): 1534.
- Alypoor, S., Abdolmaleki, A., Mamoudi, F., Haghigat, K., Soluki, M. (2023). Evaluation of the Neuroprotective Effect of Eugenol on the Improvement of Sciatic Nerve Injury in Rats. *Iranian Journal of Toxicology*, 17(3):53-59.
- Azimpour, M., Mahmoudi, F., Abdolmaleki, A. and Bayrami, A. (2022). Thyroxine accelerates functional recovery in a rat model of sciatic nerve crush. *Turk Neurosurg*, 32(2): 298-304.
- Babazadeh, A., Vahed, F. M., Liu, Q., Siddiqui, S. A., Kharazmi, M. S. and Jafari, S. M. (2023). Natural Bioactive Molecules as Neuromedicines for the Treatment/Prevention of Neurodegenerative Diseases. *ACS omega*, 8(4): 3667-3683.
- Barot, J. and Saxena, B. (2021). Therapeutic effects of eugenol in a rat model of traumatic brain injury: A behavioral, biochemical, and histological study. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(4): 318-327.
- Beltrán-Gracia, E., López-Camacho, A., Higuera-Ciagara, I., Velázquez-Fernández, J. B. and Vallejo-Cardona, A. A. (2019). Nanomedicine review: Clinical developments in liposomal applications. *Cancer Nanotechnology*, 10(1): 1-40.
- Choi, C. Y., Park, K. R., Lee, J. H., Jeon, Y. J., Liu, K. H., Oh, S. and Yea, S. S. (2007). Isoeugenol suppression of inducible nitric oxide synthase expression is mediated by down-regulation of NF- κ B, ERK1/2, and p38 kinase. *European journal of pharmacology*, 576(1-3): 151-159.
- Cui, Z., Liu, Z., Zeng, J., Chen, L., Wu, Q., Mo, J. and Guo, X. (2019). Eugenol inhibits non-small cell lung cancer by repressing expression of NF- κ B-regulated TRIM59. *Phytotherapy Research*, 33(5): 1562-1569.
- Davis, D., Maini, K., Vasudevan, A. (2022) Sciatica. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing. Treasure Island (FL), 29939685.
- de Araújo Lopes, A., da Fonseca, F. N., Rocha, T. M., de Freitas, L. B., Araújo, E. V. O., Wong, D. V. T., & Leal, L. K. A. M. (2018). Eugenol as a promising molecule for the treatment of dermatitis: antioxidant and anti-inflammatory activities and its nanoformulation. *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Estevez, A. Y., Pritchard, S., Harper, K., Aston, J. W., Lynch, A., Lucky, J. J., Ludington, J.S., Chatani, P., Mosenthal, W.P., Leiter, J.C., Andreescu, S., Erlichman, J. S. (2011). Neuroprotective mechanisms of cerium oxide nanoparticles in a mouse hippocampal brain slice model of ischemia. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(6): 1155-1163.
- Fernandez, M., Hartvigsen, J., Ferreira, M. L., Refshauge, K. M., Machado, A. F., Lemes, Í. R. and Ferreira, P. H. (2015). Advice to stay active or structured exercise in the management of sciatica. *Spine*, 40(18): 1457-1466.

- Hazer Rosberg, D. B., Hazer, B., Stenberg, L. and Dahlin, L. B. (2021). Gold and cobalt oxide nanoparticles modified poly-propylene poly-ethylene glycol membranes in poly (ϵ -Caprolactone) conduits enhance nerve regeneration in the sciatic nerve of healthy Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13): 7146.
- Hekmatimoghaddam, S., Iman, M., Sardo, H. S. and Jebali, A. (2019). Gelatin hydrogel containing cerium oxide nanoparticles covered by interleukin-17 aptamer as an anti-inflammatory agent for brain inflammation. *Journal of neuroimmunology*, 326: 79-83.
- Huang, X., Liu, Y., Lu, Y. and Ma, C. (2015). Anti-inflammatory effects of eugenol on lipopolysaccharide-induced inflammatory reaction in acute lung injury via regulating inflammation and redox status. *International immunopharmacology*, 26(1): 265-271.
- Irie, Y. (2006). Effects of eugenol on the central nervous system: its possible application to treatment of Alzheimer's disease, depression, and Parkinson's disease. *Current Bioactive Compounds*, 2(1): 57-66.
- Jahromi, M., Razavi, S., Seyedebrahimi, R., Reisi, P. and Kazemi, M. (2021). Regeneration of rat sciatic nerve using PLGA conduit containing rat ADSCs with controlled release of BDNF and gold nanoparticles. *Journal of Molecular Neuroscience*, 71: 746-760.
- Jensen, R. K., Kongsted, A., Kjaer, P. and Koes, B. (2019). Diagnosis and treatment of sciatica. *bmj*, 367.
- Jungen, M. J., Ter Meulen, B. C., Van Osch, T., Weinstein, H. C., & Ostelo, R. W. (2019). Inflammatory biomarkers in patients with sciatica: a systematic review. *BMC musculoskeletal disorders*, 20: 1-9.
- Kizilay, Z., Aktas, S., Cetin, N. K., Kilic, M. A. and Ozturk, H. (2019). Effect of *Tarantula cubensis* extract (Theranechron) on peripheral nerve healing in an experimental sciatic nerve injury model in rats. *Turk Neurosurg*, 29(5): 743-749.
- Ma, L., Mu, Y., Zhang, Z. and Sun, Q. (2018). Eugenol promotes functional recovery and alleviates inflammation, oxidative stress, and neural apoptosis in a rat model of spinal cord injury. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 36(5): 659-668.
- Magalhães, C. B., Casquilho, N. V., Machado, M. N., Riva, D. R., Travassos, L.H., Leal-Cardoso, J.H., Fortunato, R.S., Faffe, D.S., Zin, W. A. (2019). The anti-inflammatory and anti-oxidative actions of eugenol improve lipopolysaccharide-induced lung injury. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 259:30-36.
- Mishra, P. and Stringer, M. D. (2010). Sciatic nerve injury from intramuscular injection: a persistent and global problem. *International journal of clinical practice*, 64(11): 1573-1579.
- Nelson, B. C., Johnson, M. E., Walker, M. L., Riley, K. R. and Sims, C. M. (2016). Antioxidant cerium oxide nanoparticles in biology and medicine. *Antioxidants*, 5(2): 15.
- Oró, D., Yudina, T., Fernández-Varo, G., Casals, E., Reichenbach, V., Casals, G., Presa, B.G., Sandalinas, S., Carvajal, S., Puentes, V., Jiménez, W. (2016). Cerium oxide nanoparticles reduce steatosis, portal hypertension and display anti-inflammatory properties in rats with liver fibrosis. *Journal of hepatology*, 64(3): 691-698.
- Ostelo, R. W. (2020). Physiotherapy management of sciatica. *Journal of physiotherapy*, 66(2): 83-88.
- Park, E. J., Cho, W. S., Jeong, J., Yi, J. H., Choi, K., Kim, Y. and Park, K. (2010). Induction of inflammatory responses in mice treated with cerium oxide nanoparticles by intratracheal instillation. *Journal of Health Science*, 56(4): 387-396.
- Pinto, R. Z., Maher, C. G., Ferreira, M. L., Ferreira, P. H., Hancock, M., Oliveira, V. C. and Koes, B. (2012). Drugs for relief of pain in patients with sciatica: systematic review and meta-analysis. *Bmj*, 344.
- Poutoglidou, F., Piagkou, M., Totlis, T., Tzika, M. and Natsis, K. (2020). Sciatic nerve variants and the piriformis muscle: a systematic review and meta-analysis. *Cureus*, 12(11).
- Soluki, M., Mahmoudi, F., Abdolmaleki, A., Asadi, A. and Sabahi Namini, A. (2020). Cerium oxide nanoparticles as a new neuroprotective agent to promote functional recovery in a rat model of sciatic nerve crush injury. *British Journal of Neurosurgery*, 1-6.
- Taleuzzaman, M., Jain, P., Verma, R., Iqbal, Z. and Mirza, M. (2021). Eugenol as a potential drug candidate: A review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(20): 1804-1815.
- Valat, J. P., Genevay, S., Marty, M., Rozenberg, S. and Koes, B. (2010). Sciatica. Best practice & research *Clinical rheumatology*, 24(2): 241-252.
- Van Tulder, M., Peul, W. and Koes, B. (2010). Sciatica: what the rheumatologist needs to know. *Nature reviews Rheumatology*, 6(3): 139-145.

An investigation of synergistic effects of cerium oxide nanoparticles and eugenol on the recovery of sensory and motor neuron function in sciatic nerve compression rat model

Soheila Alypoor¹, Fariba Mahmoudi ^{1*}, Arash Abdolmaleki^{1,2}, Khadijeh Haghghat ¹

Received: 2023-02-14

Accepted: 2021-05-15

Abstract

Introduction: Improvement of peripheral nerve damage is one of the most important challenges clinically. Using new methods such as Nano drugs and natural compounds can be a suitable option due to their effective effects and less side effects. In this study, the synergistic effects of eugenol and cerium oxide nanoparticles was investigated on sciatic nerve recovery in a rat model. **Method and material:** In this study, twenty-eight male rats weighing 250-300 g were divided into four groups (n=7). The control group and sciatica model injected saline (0.5ml, IP). Two groups model sciatic received intraperitoneally (50 mg/kg eugenol and 20 mg/kg cerium oxide nanoparticles) or (100 mg/kg eugenol and 20 mg/kg cerium oxide nanoparticles). Then sensory and motor behavioral tests performed. The muscle tissue removed. Finally, changes in muscle weight investigated. The study was conducted under supervision of Research Ethics Committee of the University of Mohagheh Ardabili (code: IR.UMA.REC.1400.029). **Results:** Intraperitoneal injection of eugenol plus cerium oxide nanoparticles increased the recovery speed of sensory and motor neurons compared to the sciatica model group. Also, in the group receiving eugenol plus cerium oxide the amount of muscle atrophy was lower. The improvement of nerve tissue was significant in the high-dose group. **Conclusion:** The results showed that eugenol/cerium oxide accelerates the regeneration of nerve tissue. Therefore, its neuroprotective potential can be used to treat diseases related to peripheral nerve damage.

Keywords: *Cerium Oxide, Eugenol, Nanoparticles, Sciatic*

1-M.Sc student, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

2-Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

(*Correspondence: f.mahmoudi@uma.ac.ir)

3-Associate Professor, Department of Engineering Sciences, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohagheh Ardabili, Namin, Iran

4-Ph.D student, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran