

اثرات پیشگیری کننده پروژسترون بر پاسخ الکتروفیزیولوژیک عصب سیاتیک در مدل درد نوروپاتیک فشرده مزمن در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی

مرتضی جراحی^{۱*}(Ph.D)، حسین علی صفاخواه^۱(M.Sc)، رویا حسنی^۱(Ph.D)، علی رشیدی پور^۱(Ph.D)

۱- آزمایشگاه درد نوروپاتی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۲۰

jarrahi44@yahoo.com

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۳۱۲۱۸۷

چکیده

هدف: نوروپاتی محیطی (PN) در اثر آسیب به دستگاه محیطی سیستم عصبی (PNS) به وجود می آید و معمولاً باعث ضعف، بی حسی و درد نوروپاتیک می شود که نوعی درد مزمن است. علی رغم وجود انتخاب های درمانی متعدد، درمان درد نوروپاتی با چالش هایی روبرو است و درمان های موجود هنوز رضایت بخش نیست. استروئیدهای عصبی، تنظیم کننده های فیزیولوژیکی مهم عملکرد PNS هستند. پروژسترون یکی از نورواستروئیدهایی است که دارای خواص ضد دردی و ضد التهابی است و گیرنده های گابا-A نقش مهمی در وساطت این اثر دارند. در این مطالعه به دنبال القاء درد نوروپاتیک، اثرات پیشگیری کننده پروژسترون بر اختلالات پاسخ الکتروفیزیولوژیک عصب سیاتیک و نقش گیرنده های گابا-A در اثرات احتمالی آن در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه از ۱۴۰ سر رت نر نژاد ویستار در ۱۴ گروه (n=10) استفاده شد. ابتدا درد نوروپاتیک با روش صدمه فشرده مزمن (CCI) در گروه های مربوطه ایجاد شد. پس از ایجاد CCI در روز دوم آزمایش تزریق پروژسترون، بیکوکولین یا وهیکل آن به صورت روزانه تا روز ۱۳ صورت گرفته و در روز ۱۴ و ۲۷ سرعت هدایت عصب سیاتیک به روش In situ اندازه گیری شد.

یافته ها: بر اساس یافته های این مطالعه، تزریق روزانه پروژسترون به مدت ۱۲ روز در موش های CCI شده در مقایسه با گروه های CCI که وهیکل تزریق شده بود، توانست از کاهش سرعت هدایت اعصاب حسی و حرکتی در روزهای ۱۴ و ۲۷ پیشگیری نماید و این اثر توسط بیکوکولین مهار شد.

نتیجه گیری: یافته های این تحقیق نشان داد، که احتمالاً درمان با پروژسترون در زمانی که نوروپاتی محیطی حاصل از CCI در حال توسعه و تثبیت است، می تواند از ایجاد نوروپاتی و اختلالات الکتروفیزیولوژیک عصب سیاتیک که احتمالاً بخشی از آن از طریق گیرنده های گابا-A انجام می شود، جلوگیری نماید و این اثر در تعریف محدوده زمانی شروع القاء و ماندگاری نوروپاتی در مدل CCI هم خوانی دارد.

واژه های کلیدی: درد نوروپاتیک، عصب سیاتیک، بیکوکولین، پروژسترون، الکتروفیزیولوژی

مقدمه

و درد خود به خود مشخص می شود و به دلیل عدم پاسخگویی به اکثر داروهای ضد درد، درد مزمن و به ویژه درد نوروپاتیک، هنوز یک چالش بزرگ برای پزشکان محسوب می شود [۳].

این وضعیت پاتولوژیک ممکن است یا ارثی و یا اکتسابی باشد. اشکال ارثی PN گروهی از بیماری ها هستند که در مجموع از آن ها به عنوان بیماری Charcot-Marie-Tooth یاد می شود که از جمله انواع دمیلینه کننده و آکسونی محسوب می شوند [۴]. در مقابل، PN اکتسابی ممکن است در طول

نوروپاتی محیطی (PN) یکی از شایع ترین اختلالاتی است که بر عملکرد فرد تأثیر می گذارد که از نمونه های آن، مونونوروپاتی یا پلی نوروپاتی است، با شیوع حدود ۲/۴٪ در جمعیت عمومی که با افزایش سن به ۸٪ می رسد [۱] و از عوارض شاخص نوروپاتی محیطی درد نوروپاتیک است [۱]. درد نوروپاتیک یک سندرم شایع است که سیستم حسی پیکری را تحت تأثیر قرار می دهد و یکی از دشوارترین چالش ها در درمان درد است [۲]. در حالت پردردی، آلودینیا

درمان آسیب‌های مغزی و نخاعی و همچنین سکنه مغزی ایسکمیک استفاده کرد. برخی گزارش‌ها حاکی از دخالت پروژسترون در تعدیل درد هستند. به عنوان مثال، یک مطالعه نشان داد که سطح پروژسترون در موش‌های دیابتی ناشی از STZ به طور قابل توجهی کاهش یافت و درمان مزمن یک ماهه با پروژسترون از کاهش سرعت هدایت عصبی (NCV) و اختلال آستانه حرارتی جلوگیری کرد [۱۹]. همچنین نشان داده شده است که پروژسترون و مشتق دی هیدروپروژسترون آن در یک مدل تجربی آسیب له شدن عصبی با تغییرات بیوشیمیایی و اختلال درد مقابله می‌کند [۲۰]. در مطالعه دیگری تجویز روزانه پروژسترون (۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم) از ایجاد آلودانیای مکانیکی و کاهش پاسخ دردناک به محرک سرما در موش‌هایی که در معرض فشردگی عصب سیاتیک بودند، جلوگیری کرد [۲۱]. علاوه بر این پروژسترون (۸ و ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم) قادر است از طریق عملکرد محافظت عصبی در حیوانات مبتلا به درد نوروپاتی عصب سه قلو ناشی از اسید لیزوفسفاتییدیک اثرات ضد درد ایجاد کند [۲۲]. همچنین، نتایج یک پژوهش نشان داد که پروژسترون در دوزهای ۶ یا ۱۲ mg/kg می‌تواند باعث بهبود قابل توجهی در پارامترهای الکتروفیزیولوژیکی نظیر سرعت هدایت عصب و دامنه پتانسیل عمل مرکب عضله یا عصب شود. داده‌های مذکور نشان داد که پس از تثبیت نوروپاتی، تجویز پروژسترون و ادامه آن برای مدت زمان کافی، ممکن است اثر درمانی داشته باشد [۲۳]. اگرچه این مشاهدات نشان می‌دهد که پروژسترون ممکن است در کنترل درد در شرایط پاتولوژیک نقش داشته باشد، مطالعات بیشتر با استفاده از مدل‌ها و رویکردهای مختلف برای تأیید چنین نقشی و به ویژه اثرات پیشگیری پروژسترون ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، در این مقاله ما به بررسی این موضوع پرداختیم که آیا قبل از تثبیت نوروپاتی، شروع درمان با پروژسترون در برابر درد نوروپاتی، از جنبه جلوگیری از ایجاد اختلالات الکتروفیزیولوژیک هم در مدل CCI موش موثر است یا خیر. همچنین نقش گیرنده‌های گابا-A در اثرات احتمالی پیشگیری‌کننده پروژسترون بر پاسخ الکتروفیزیولوژیک عصب سیاتیک در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مقاله حاضر اقتباس از طرح تحقیقاتی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره ۱۱۸۱ و دارای تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه به شماره ۹۳/۵۰۳۷۷۶

فرآیند پیری، در عفونت‌ها و اختلالات خود ایمنی مانند ایدز، آرتریت روماتوئید، سندرم گیلن باره، سارکوئیدوز و لوپوس اریتماتوی سیستمیک ظاهر شود [۵]. همچنین ممکن است در اختلالات سیستمیک یا متابولیک (به عنوان مثال، دیابت، نارسایی کلیه، کمبود ویتامین، اعتیاد به الکل)، پس از قرار گرفتن در معرض ترکیبات سمی (مانند اکسید نیتروژن، جیوه و حلال‌های آلی) و در طول درمان‌های دارویی (به عنوان مثال: شیمی‌درمانی، داروهای ضد سل و ضد رتروویروسی) بروز کند و در این حالات، ممکن است آسیب آکسونی و یا دمیالیناسیون اولیه رشته‌های عصبی رخ دهد. شایع‌ترین بیماری رشته‌های عصبی، دژنراسیون آکسون است که در اختلالات متابولیک، ایسکمیک، قرار گرفتن در معرض سموم و اختلالات ارثی به وجود می‌آید [۶].

علت و مکانیسم زمینه‌ای چنین دردهایی به خوبی شناخته نشده است و درمان‌های موجود دارای مزایای محدودی بوده و با معایب قابل توجهی همراه است [۷]. از این رو، روشن کردن مکانیسم‌های زیربنایی این اختلالات رایج و شگفت‌آور و شناسایی استراتژی‌های جدید برای توسعه درمان‌های مؤثر از اهمیت خاصی برخوردار است [۸]. CCI عصب سیاتیک یک مدل پرکاربرد از درد نوروپاتی است که مجموعه‌ای از تغییرات مولکولی، بیوشیمیایی و ساختاری را در نورون‌های حسی اولیه ایجاد می‌کند و احساسات درد نوروپاتی مشابه آن‌چه در انسان مشاهده می‌شود را به وجود می‌آورد [۹].

یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که استروئیدهای عصبی فعال ممکن است عوامل امیدوارکننده‌ای در مطالعات درمانی باشند، زیرا اثرات محافظتی آن‌ها بر روی عصب، اثربخشی آن‌ها را در درمان اختلالات عصبی، آسیب‌های فیزیکی، پیری یا بیماری‌های دمیالینه‌کننده ارثی نشان داده است [۱۰]. پروژسترون یکی از مهم‌ترین استروئیدهای عصبی فعال است. این هورمون در سیستم عصبی مرکزی و محیطی نیز تولید می‌شود و گیرنده‌های آن بر روی نورون‌ها و سلول‌های پشتیبان در سیستم عصبی قرار دارند [۱۱، ۱۲]. مطالعات قبلی اثرات نوروتروفیک و محافظت‌کننده عصبی پروژسترون آگروژن را نشان داده‌اند. مشخص شده که تجویز پروژسترون و مشتقات آن یک درمان مؤثر برای آسیب مغزی تروماتیک، سکنه مغزی [۱۳] و PN در حیوانات آزمایشگاهی است [۱۴، ۱۵]. پروژسترون همچنین مرگ سلول‌های عصبی را در نورون‌های هسته کدیت کاهش می‌دهد [۱۶] و به دنبال آسیب‌های مغزی و نخاعی، اثرات محافظت‌کننده عصبی ایجاد می‌کند [۱۷، ۱۸]. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که می‌توان با موفقیت از پروژسترون یا برخی از متابولیت‌های آن در

گلیکول) به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۲: Sham D27، در این گروه پوست و عضله باز شد و عصب سیاتیک دیده شد و بدون ایجاد گره بر روی عصب پوست و عضله دوخته شد سپس ابتدا وهیکل بیکوکولین (نرمال سالین) و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون (پروپیلن گلیکول) به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۳: CCI (VB+VP) D14، این گروه ابتدا وهیکل بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۴: CCI (VB+VP) D27، این گروه ابتدا وهیکل بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۵: CCI (B2+VP) D14، در این گروه ابتدا ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم، تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۶: CCI (B2+VP) D27، در این گروه ابتدا ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم، تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۷: CCI (B0.5+VP) D14، در این گروه ابتدا ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم، تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۸: CCI (VB+P) D27، در این گروه ابتدا وهیکل بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۹: D14 CCI (VB+P)، در این گروه ابتدا وهیکل بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۱۰: CCI (B0.5+VP) D27، در این گروه ابتدا ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم، تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

IR.SEMUMS.REC. مورخ ۹۳/۰۷/۰۶ می‌باشد. در این مطالعه از ۱۴۰ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر بالغ نژاد ویستار (۱۰±۲۵۰ گرم) که به صورت جداگانه در قفس‌های انفرادی (۵۰_۲۶_۲۵ سانتی‌متر) و چرخه روشنایی/تاریکی (چراغ‌ها ۶ صبح روشن و ۶ بعدازظهر خاموش) ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند، استفاده شد. غذا و آب به صورت آزاد در دسترس حیوانات قرار داشت و دمای محیط (۲۲±۲ C) و رطوبت نسبی (۵۰-۶۰٪) در سطح ثابتی حفظ می‌شد.

میزان و روش تزریق دارو. پروژسترون (سیگما-آلدریج) در پروپیلن گلیکول به عنوان وهیکل حل شد و دوز ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه و به صورت داخل صفاقی در حجم ۲ میلی‌لیتر بر کیلوگرم تزریق شد. بیکوکولین آنتاگونیست گیرنده‌های گابا-A است و نیم ساعت قبل از تزریق پروژسترون تجویز شد. تمام تزریقات پس از تست‌های رفتاری در روزهای مختلف آزمایش و توسط یک نفر انجام شد.

روش ایجاد (Chronic Constriction injury) CCI: ابتدا موش‌ها توسط ترازوی دیجیتال وزن شدند و نیم ساعت قبل از عمل جراحی داری ضد درد بوپرنورفین با دوز ۰/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش زیر جلدی دریافت نمودند. فرایند بی‌هوشی تحت مخلوطی از کتامین و زایلازین (سیگما-آلدریج) (به ترتیب با دوزهای ۶۰ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انجام شد. برای انجام CCI، به صورت قراردادی در پای چپ و در ناحیه مشترک اعصاب L5, L4, L6 از عصب سیاتیک، ۴ گره شل به وسیله نخ جراحی کرومیک ۴/۰ به فاصله یک میلی‌متر از هم زده شد. سپس لایه‌های عضلانی باز شده و پوست را توسط نخ بخیه سیلک ۰/۴ بخیه زدیم [۸]. عملیات دست‌کاری در لایه‌های عضلانی و عصب در گروه شم انجام شد اما گره زده نشد. برای به حداقل رساندن تفاوت در روش تمام عملیات توسط یک فرد انجام شد.

گروه‌های آزمایشی. در این مطالعه ۱۴۰ سرموش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر به ۱۴ گروه مساوی (n=۱۰) در هر گروه) به روش تصادفی تخصیصی تقسیم شدند. در کلیه گروه‌ها، پس از ایجاد CCI، تزریق داروها (پروژسترون یا وهیکل آن (پروپیلن گلیکول) یا بیکوکولین یا وهیکل آن (نرمال سالین)) به صورت روزانه تا روز ۱۳ صورت گرفت و در روز ۱۴ و ۲۷ تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۱: Sham D14، در این گروه پوست و عضله باز شد و عصب سیاتیک دیده شد و بدون ایجاد گره بر روی عصب پوست و عضله دوخته شد سپس ابتدا وهیکل بیکوکولین (نرمال سالین) و ۳۰ دقیقه بعد وهیکل پروژسترون (پروپیلن

ثبت با استفاده از کل تنه عصبی به کمک الکترودهای سیمی پلاتین انجام شد. این فرآیند تحت بی‌هوشی مخلوط کتامین و زایلازین (به ترتیب ۶۰ و ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) انجام شده و برای جلوگیری از دهیدراته شدن عصب، آماده‌سازی عصب در استخری از پارافین مایع صورت گرفت. سپس فیبرهای حرکتی را توسط دو جفت الکتروده که مستقیماً روی عصب سیاتیک اعمال می‌شد (مدت زمان تحریک: ۰/۱ میلی‌ثانیه؛ فرکانس: ۱ هرتز و شدت محرک: ۱۰ ولت)، قرار داده، ابتدا در ناحیه سیاتیک نوچ و سپس در ناحیه تاندون آشیل تحریک نمودیم و حاصل این تحریک، ثبت پتانسیل عمل عضلانی (CMAPs) با استفاده از الکترودهای سوزنی دوقطبی قرار گرفته در عضله گاستروکنمیوس بود. در ضمن فاصله بین دو الکتروده تحریکی با استفاده از کولیس کشویی با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس سرعت هدایت (CV) عصب، از تفاوت در تأخیر بین پتانسیل‌های عمل عضلانی ثبت شده و فواصل فیزیکی بین دو جفت از الکترودهای تحریک‌کننده و تحت کنترل نرم‌افزار محاسبه شد.

سرعت هدایت عصب حسی (SNCV) سورال. برای اندازه‌گیری سرعت هدایت عصب ابتدا در حفزه پوپلیتال، روغن پارافین گرم می‌ریزیم سپس عصب سورال را باز نموده و از فاسیای اطراف جدا می‌کنیم. برای تحریک عصب، از دو بخش پروگزیمال و برای ثبت پتانسیل‌های عمل اعصاب حسی (SNAP) از بخش دیستال استفاده شد. پارامترهای تحریک و روش محاسبه SNCV مشابه روش‌های MNCV بودند اندازه‌گیری شد [۲۵].

روش‌های آماری. در آنالیز داده‌های این مطالعه از نرم‌افزار SPSS استفاده شد و تمام مقادیر به صورت $SEM \pm$ MEAN ارائه شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمایش Shapiro-Wilk تست شد. تحلیل داده‌های SNCV سورال، و MNCV تیپبال توسط آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد. در صورتی که آزمون ANOVA معنی‌دار می‌شد، از آزمون توکی برای مقایسه تک تک گروه‌ها استفاده می‌شد و چنانچه مقدار P کم‌تر از ۰/۰۵ بود، تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.

گروه ۱۱: CCI (B2+P) D14، در این گروه ابتدا ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۱۲: CCI (B2+P) D27، در این گروه ابتدا ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

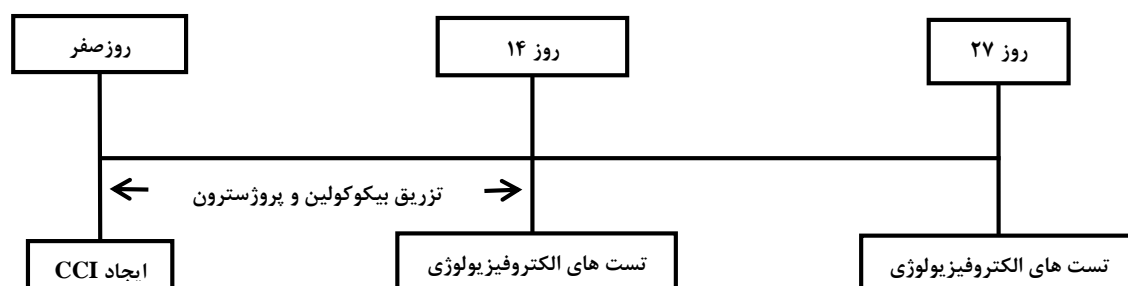
گروه ۱۳: CCI (B0.5+P) D14، در این گروه ابتدا ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه تزریق شد و در روز چهاردهم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

گروه ۱۴: CCI (B0.5+P) D27، در این گروه ابتدا ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم بیکوکولین و ۳۰ دقیقه بعد پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه تزریق شد و در روز سی و پنجم تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد.

در کلیه گروه‌های فوق‌الذکر، پس از ایجاد CCI، تزریق داروها شامل پروژسترون ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا وهیکل آن (پروپیلن گلیکول) یا بیکوکولین با دوزهای ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا وهیکل آن (نرمال سالین) به صورت روزانه تا روز ۱۳ صورت گرفت و در روز ۱۴ و ۲۷ تست‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد. تایم لاین انجام آزمایش‌ها در شکل ۱ آمده است.

روش‌های الکتروفیزیولوژیک. در این پژوهش از سیستم پاورلب (AD Instruments، استرالیا) برای ثبت و تجزیه و تحلیل الکتروفیزیولوژیک داده‌ها استفاده شد. دستگاه پاورلب ساخت کشور استرالیا است و یک سیستم ثبت اطلاعات از عصب، عضله و سایر پارامترهای بیولوژیک بدن موجود زنده است. این دستگاه مجهز به استیمولاتور نیز می‌باشد و در آزمایشات فیزیولوژی و فارماکولوژی کاربردهای آموزشی و پژوهشی دارد.

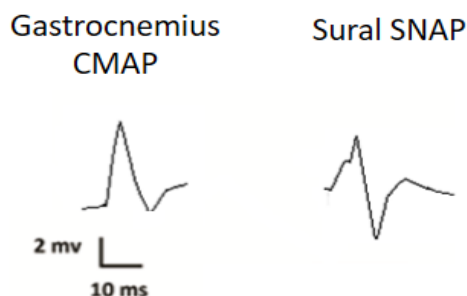
سرعت هدایت عصبی حرکتی (MNCV) تیپبال. سرعت هدایت عصبی حرکتی (MNCV) با مقداری تغییر در روش [۲۴] از عصب تیپبال چپ ثبت شد. به طور خلاصه تحریک و



شکل ۱. تایم لاین انجام آزمایش‌ها

نتایج

دو نمونه از ثبت‌های الکتروفیزیولوژی به‌دست آمده از عضله گاستروکینیوس و عصب سورال موش صحرایی در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲. دو نمونه از ثبت بدست آمده طی اندازه‌گیری سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال (سمت چپ) و سرعت هدایت عصب حسی سورال (سمت راست).

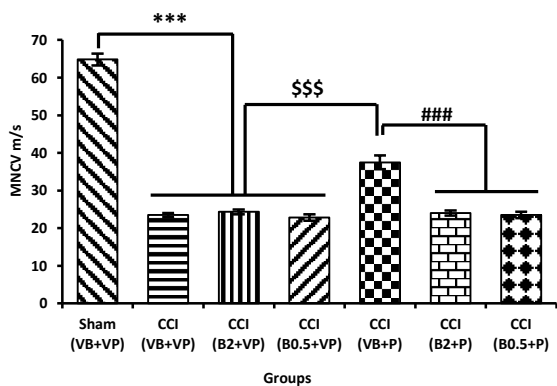
مقایسه و بررسی اثر پروژسترون و بیبکولین بر سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال در روز چهاردهم بعد از CCI. نتایج آماری ANOVA یک طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های این تجربه وجود دارد [F(۶,۶۳) = ۱۴۱/۴۷۶ و P < ۰/۰۰۱]. (شکل ۳).

بررسی آماری با (Tukey-post test) نشان داد که در مقایسه با گروه Sham ایجاد CCI به شکل معنی‌دار باعث کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال گردید P < ۰/۰۰۱. همچنین در مقایسه گروه Sham با گروه‌های CCI که مورد تزریق بیبکولین قرار گرفتند اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که بیانگر آن است که بیبکولین نتوانسته است از کاهش سرعت هدایت عصب جلوگیری نماید P < ۰/۰۰۱.

استفاده از پروژسترون در مقایسه با گروه‌های CCI که مورد تزریق پروژسترون قرار نگرفته بودند نشان داد پروژسترون باعث پیشگیری از کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال گردید P < ۰/۰۰۱.

مقایسه گروه تزریق پروژسترون به تنهایی با گروه‌هایی که تزریق بیبکولین قبل از پروژسترون انجام شده بود نشان داد که پروژسترون باعث پیشگیری از کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال گردید P < ۰/۰۰۱.

بررسی سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال در روز بیست و هفتم بعد از CCI. نتایج آماری ANOVA یک طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های این تجربه وجود دارد [F(۶,۶۳) = ۱۹۸/۱۵۲ و P < ۰/۰۰۱]. (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه و بررسی اثر پروژسترون و بیبکولین بر سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال در روز بیست و هفتم بعد از CCI. P < ۰/۰۰۱: **** مقایسه بین گروه شم با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل‌های بیبکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق بیبکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته‌اند. P < ۰/۰۰۱: \$\$\$ مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیبکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل‌های بیبکولین و پروژسترون (CCI (VB +VP) و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیبکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته‌اند.

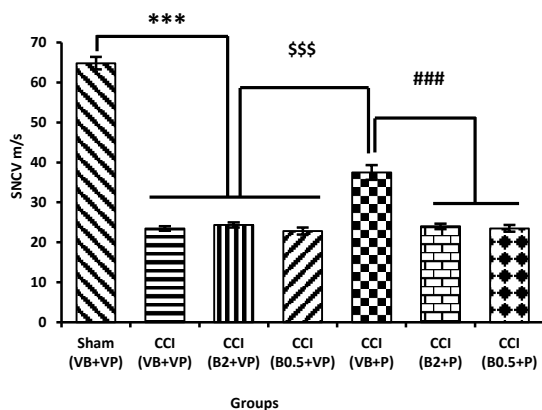
P < ۰/۰۰۱: #### مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیبکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل بیبکولین به همراه پروژسترون و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیبکولین به همراه پروژسترون قرار گرفته‌اند.

CCI: Chronic Constriction Injury, B: Bicuculin
P: Progesterone, V: Vehicle

شکل ۳. مقایسه و بررسی اثر پروژسترون و بیبکولین بر سرعت هدایت عصب حرکتی تیبیال در روز چهاردهم بعد از CCI. P < ۰/۰۰۱: **** مقایسه بین گروه شم با گروه‌های CCI که تحت تزریق بیبکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته‌اند. P < ۰/۰۰۱: \$\$\$ مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیبکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل‌های بیبکولین و پروژسترون (CCI (VB +VP) و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیبکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته‌اند. P < ۰/۰۰۱: #### مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیبکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل بیبکولین به همراه پروژسترون و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیبکولین به همراه پروژسترون قرار گرفته‌اند.

CCI: Chronic Constriction Injury, B: Bicuculin
P: Progesterone, V: Vehicle

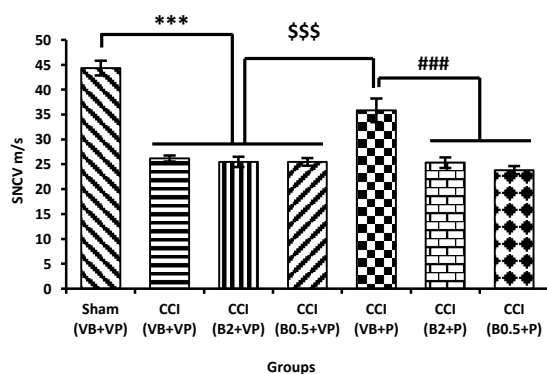
مقایسه گروه تزریق پروژسترون به تنهایی با گروه‌هایی که تزریق بیکوکولین قبل از پروژسترون انجام شده بود نشان داد که پروژسترون باعث پیشگیری از کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیپال گردید $P < 0.001$.



شکل ۵. مقایسه و بررسی اثر پروژسترون و بیکوکولین بر سرعت هدایت عصب حسی سوزال در روز چهاردهم بعد از CCI.

$P < 0.001$: $p < 0.001$ مقایسه بین گروه شم با گروه‌های CCI که تحت تزریق بیکوکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته اند. $P < 0.001$: $p < 0.001$ مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل‌های بیکوکولین و پروژسترون (CCI (VB +VP) و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیکوکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته اند. $P < 0.001$: $p < 0.001$ مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیکوکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل بیکوکولین به همراه پروژسترون و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیکوکولین به همراه پروژسترون قرار گرفته اند.

CCI: Chronic Constriction Injury, B: Bicutulin
P: Progesterone, V: Vehicle



شکل ۶. مقایسه و بررسی اثر پروژسترون و بیکوکولین بر سرعت هدایت عصب حسی سوزال در روز بیست و هفتم بعد از CCI.

$P < 0.001$: $p < 0.001$ مقایسه بین گروه شم با گروه‌های CCI که تحت تزریق بیکوکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته اند. $P < 0.001$: $p < 0.001$ مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیکوکولین و پروژسترون (CCI (VB +VP) و گروه‌های

بررسی آماری با (Tukey-post test) نشان داد در مقایسه با گروه Sham ایجاد CCI به شکل معنی‌دار باعث کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیپال گردید $P < 0.001$.

بررسی آماری با (Tukey-post test) نشان داد که در مقایسه با گروه Sham ایجاد CCI به شکل معنی‌دار باعث کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیپال گردید $P < 0.001$. همچنین در مقایسه گروه Sham با گروه‌های CCI که مورد تزریق بیکوکولین قرار گرفتند اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که بیانگر آن است که بیکوکولین نتوانسته است از کاهش سرعت هدایت عصب جلوگیری نماید $P < 0.001$.

مقایسه گروه تزریق پروژسترون به تنهایی با گروه‌هایی که تزریق بیکوکولین قبل از پروژسترون انجام شده بود نشان داد که پروژسترون باعث پیشگیری از کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیپال گردید $P < 0.001$.

مقایسه و بررسی سرعت هدایت عصب حسی سوزال در روز چهاردهم بعد از CCI. نتایج آماری ANOVA یک طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های این تجربه وجود دارد $(P < 0.001)$ و $F(6,63) = 35.663$ (شکل ۵).

بررسی آماری با Tukey-post test نشان داد که در مقایسه با گروه Sham، ایجاد CCI به شکل معنی‌دار باعث کاهش سرعت هدایت عصب سوزال گردید $(P < 0.001)$

همچنین در مقایسه گروه Sham با گروه‌های CCI که تحت تزریق بیکوکولین قرار گرفتند اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که بیانگر آن است که بیکوکولین نتوانسته است از کاهش سرعت هدایت عصب جلوگیری نماید $(P < 0.001)$.

مقایسه و بررسی سرعت هدایت عصب حسی سوزال در روز بیست و هفتم بعد از CCI:

نتایج آماری ANOVA یک طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های این تجربه وجود دارد $(P < 0.001)$ و $F(6,63) = 35.663$ (شکل ۶).

بررسی آماری با (Tukey-post test) نشان داد که در مقایسه با گروه Sham ایجاد CCI به شکل معنی‌دار باعث کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیپال گردید $P < 0.001$.

بررسی آماری با (Tukey-post test) نشان داد که در مقایسه با گروه Sham ایجاد CCI به شکل معنی‌دار باعث کاهش سرعت هدایت عصب حرکتی تیپال گردید $P < 0.001$.

همچنین در مقایسه گروه Sham با گروه‌های CCI که مورد تزریق بیکوکولین قرار گرفتند اختلاف معنی‌دار مشاهده شد که بیانگر آن است که بیکوکولین نتوانسته است از کاهش سرعت هدایت عصب جلوگیری نماید $P < 0.001$.

[۲۹]. لذا در این بحث مطالعاتی را که در آن پروژسترون در توسعه درد نوروپاتییک و علائم رفتاری آن نقش پیشگیرانه یا درمانی داشته است و با مطالعه الکتروفیزیولوژیک ما هم‌خوانی داشته‌اند و شواهدی در خصوص آن‌که اثر پروژسترون با واسطه گیرنده گابا-A صورت می‌گیرد، ذکر نموده‌ایم.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیکوکولین توانست به طور تقریباً کاملی اثرات پروژسترون را در جلوگیری از ایجاد علائم الکتروفیزیولوژیک مدل آسیب مزمن ناشی از فشردگی بلوک نماید و این یافته با یافته‌های دیگران مبنی بر آن‌که این نورواستروئید عمدتاً از طریق گیرنده‌های گابا-A نقش درمانی خود را ایفا می‌نماید هم‌خوانی دارد. در دهه ۱۹۸۰ مشخص شد که متابولیت‌های درون‌زای خاص پروژسترون و دئوکسی کورتیکوسترون، تعدیل‌کننده‌های آلوستریک قوی، مؤثر و مثبت گیرنده گابا هستند. همچنین کشف شد که چنین استروئیدهایی ممکن است نه تنها در غدد درون‌ریز محیطی سنتز شوند، بلکه به عنوان نورواستروئید به طور موضعی در سیستم عصبی مرکزی، به عنوان پیام‌رسان پاراکرین یا اتوکرین عمل می‌کند و در نتیجه مهار نوروژن را تنظیم می‌کند. این اکتشافات ایجاد اشتیاق برای روشن کردن نقش فیزیولوژیکی چنین نورواستروئیدهایی و بررسی این‌که آیا ممکن است بتوان از آن‌ها در درمان اختلالات عصبی استفاده نمود یا خیر را برانگیخت [۳۰].

مثلاً آلپرووگنولون که یک متابولیت مهم پروژسترون است به عنوان یک مدولاتور الوستریک مثبت گیرنده گابا-A از طریق یک مکانیزم ژنومی می‌تواند در تنظیم افزایشی پروتئین ۲۲ محیطی که به نوبه خود برای ساخت میلین بحرانی است عمل نماید [۳۱]. مطالعات نشان داده است که کاربرد آگونست قوی گیرنده گابا-A یعنی موسیمول در گانگلیون شاخ خلفی نخاع پس از آسیب له‌شدگی عصب سیاتیک در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی، مانع از توسعه هیپرالژزی حرارتی و آلودینیای مکانیکی می‌شود و در نتیجه ظاهر مورفولوژیکی عصب آسیب کم‌تری را نشان می‌دهد (و یا بازسازی عصبی سریع‌تر می‌شود) [۳۲]. این یافته‌ها بینش ما به عنوان یک روش پیشگیری با هدف حفاظت ترمیم غشای پایه میلین را افزایش داده، که دلیل دیگری برای طراحی این مطالعه بوده است. پیشنهاد شده است که پس از آسیب‌های له‌شدگی عصب محیطی خارجی، گانگلیون شاخ خلفی نخاع یک هدف درمانی بالقوه در بازسازی عصبی و کاهش درد باشد. در آسیب عصب محیطی انفجارهای تکراری فعالیت آوران با فرکانس بالا ممکن است منجر به افزایش

CCI که تحت تزریق بیکوکولین، پروژسترون و وهیکل‌های مربوطه قرار گرفته‌اند. $p < 0.001$ مقایسه بین گروه CCI که تحت تزریق وهیکل بیکوکولین و پروژسترون قرار گرفته با گروه‌های CCI که تحت تزریق وهیکل بیکوکولین به همراه پروژسترون و گروه‌های CCI که تحت تزریق بیکوکولین به همراه پروژسترون قرار گرفته‌اند.

CCI: Chronic Constriction Injury, B: Bicyuculin
P: Progesterone, V: Vehicle

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثرات پیشگیری‌کننده تجویز مزمن پروژسترون با دوز ۶ میلی‌گرم/کیلوگرم و بیکوکولین به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های گابا-A در دو دوز نیم و دو میلی‌گرم بر کیلوگرم بر سرعت هدایت اعصاب حسی و حرکتی عصب سیاتیک در مدل درد نوروپاتییک قبل از تثبیت کامل نوروپاتی مدل CCI در روز ۱۴ و ۲۷ در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب، نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر پیشگیری از ایجاد اختلال الکتروفیزیولوژیک در اعصاب حسی و حرکتی عصب سیاتیک به دنبال تجویز مزمن پروژسترون قبل از تثبیت کامل نوروپاتی مدل CCI در مدل درد نوروپاتییک موش سفید بزرگ آزمایشگاهی است هم‌چنین، نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر آن است که این نورواستروئید نقش پیشگیری خود را عمدتاً از طریق گیرنده‌های گابا-A ایفا می‌نماید. در این مطالعه، پس از تزریق روزانه بیکوکولین و پروژسترون، ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک انجام شد و بر اساس آن مشخص شد که سرعت هدایت اعصاب حرکتی تیپال و حسی سورال در گروه‌های CCI که پروژسترون دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده وهیکل در روز ۱۴ و ۲۷ آزمایش افزایش معنی‌داری داشت و استفاده از بیکوکولین نقش گیرنده‌های گابا-A به عنوان واسطه عملکرد پروژسترون در پیشگیری از ایجاد اختلال الکتروفیزیولوژیک در موش سفید بزرگ آزمایشگاهی را مورد تأکید قرار داد. علاوه بر این خاطر نشان شد که پروژسترون پتانسیل پیشگیری از کاهش کمیت سرعت هدایت عصب در نوروپاتی مدل CCI در رت را دارا می‌باشد.

با توجه به آن‌که درد و اختلالات الکتروفیزیولوژیک شامل کاهش سرعت هدایت اعصاب حسی و حرکتی عصب سیاتیک حاصل صدمات فیبرهای عصبی موجود در عصب سیاتیک به دنبال ایجاد نوروپاتی مدل CCI به صورت مشترک تجربه می‌شوند [۲۶] و علی‌رغم آن‌که اثرات پیشگیرانه پروژسترون در رفتار درد نوروپاتییک قبلاً مورد بررسی قرار گرفته است [۲۷] این اثر از جهت جلوگیری از ایجاد اختلال الکتروفیزیولوژیک کماکان به‌خوبی روشن نشده است [۲۷-۲۷].

پیشنهاد شد. آن‌ها نشان دادند که تزریق مزمن پروژسترون باعث درمان علائم رفتاری درد و اختلالات الکتروفیزیولوژیک ایجاد شده، پس از آسیب عصب سیاتیک می‌شود. متعاقباً، دیگران نشان دادند که استروئیدهای فعال عصبی که خواص اصلاح بیماری و اثرات مثبت بر پاسخ‌های رفتاری و الکتروفیزیولوژیک آن را دارند، ممکن است بیانگر ترمیم یا بهبود عملکرد نورونی در نورویاتی محیطی باشند [۶]. علاوه بر تعداد زیاد نظرات همسو، اندک نتایج متناقضی نیز در مورد اثر پروژسترون در مدل‌های آسیب عصبی مشاهده شده است. به عنوان مثال نشان داده شده است که متعاقب بستن گره به ریشه عصبی L5 موش‌های ماده نسبت به موش‌های نر حساسیت بالاتری به درد نشان دادند. متعاقباً با استفاده از هورمون‌های جایگزین در موش‌های سفید آزمایشگاهی تخمدان برداری شده، مشخص شد که پروژسترون مسئول این حساسیت بالاتر به درد بوده است [۳۹]. یکی از دلایل احتمالی برای این تناقض، استفاده از دوز فیزیولوژیک پروژسترون است در حالی که برخی از نویسندگان معتقدند که اثرات ضد درد با استفاده از دوزهای فوق فیزیولوژیک پروژسترون ایجاد می‌شود. علاوه بر این، تفاوت بین مدل‌ها، سویه موش‌های استفاده شده و تنوع سایر متغیرها نیز ممکن است مطرح شود.

پروژسترون تعدیل‌کننده قوی درک درد محسوب می‌شود [۴۰] و توسط نورون‌ها و سلول‌های گلیال در سیستم عصبی مرکزی و محیطی نیز ساخته می‌شود و اعمال نوروفیزیولوژیک متعددی را تنظیم می‌کند. این ترکیب، در شروع میلیناسیون مجدد، تحریک ترمیم آکسونی و بهبود اعمال در PN نقش دارد. همچنین پروژسترون نه تنها بر بروز پروتئین‌های میلین توسط سلول‌های شوان موثر است بلکه اثر تحریکی آن بر تکثیر سلول‌های شوان نیز به اثبات رسیده است [۴۱]. پروژسترون یک محافظت‌کننده عصبی است و باعث بازسازی میلین در نورون‌های آسیب‌دیده شده و به دنبال ترمیم میلین در نورون‌های آسیب‌دیده با کاهش فعالیت آستروسیت‌ها و میکروگلیاها، تولید فاکتورهای التهابی از قبیل TNF آلفا را کاهش داده و بر اساس مکانیسم‌های اشاره شده تحریک‌پذیری نورون‌های حسی کاهش یافته و باعث تخفیف درد می‌شود [۴۲]. علاوه بر این باعث کاهش سنتز NO شده و نفوذپذیری عروقی نسبت به سلول‌های ایمنی را کاهش می‌دهد [۴۳]. پروژسترون از طریق مکانیسم ژنومی کلاسیک عملکرد خود، ممکن است در تنظیم افزایشی گلیکوپروتئین صفر که یک پروتئین مهم برای یکپارچگی ساختاری غلاف میلین

طولانی‌مدت قدرت سیناپسی و تغییرات سیناپسی در شاخ خلفی نخاع گردیده که به نوبه خود منجر به توسعه درد نورویاتیکی می‌شود [۳۳].

برای اولین بار اثرات مفید احتمالی استروئیدهای پروژسترون برای درمان PN توسط کونینگ و همکارانش ۱۹۹۵ پیشنهاد شد. آن‌ها نشان دادند که تزریق موضعی آن قادر است روند کاهشی میزان غشاهای میلین عصب سیاتیک موش سوری ناشی از نورویاتی را معکوس نماید [۳۴]. متعاقباً دیگران نشان دادند که استروئیدهای فعال عصبی که دارای خواص اصلاح بیماری و اثرات مثبت بر پاسخ‌های رفتاری آن را دارند ممکن است بیانگر ترمیم یا بهبود عملکرد نورونی در PN باشد [۳۵]. اگرچه قبلاً نیز مشاهداتی مبنی بر اثرات پیشگیرانه پروژسترون در توسعه رفتاری درد نورویاتیکی وجود داشته است [۲۸، ۲۷] و نتایج حاصل از مطالعه ما مبنی بر اثرات پیشگیرانه پروژسترون در توسعه اختلالات الکتروفیزیولوژیک درد نورویاتیکی با این نتایج هم‌خوانی دارد، این نتایج، با مطالعات منتشر شده در سال ۲۰۱۹ مبنی بر نقش درمانی و نه پیشگیرانه پروژسترون در کاهش درد نورویاتی و بهبود پارامترهای رفتاری و الکتروفیزیولوژیک نیز مطابقت دارد [۲۷]. همچنین نتایج مذکور با یافته‌های مطالعه سال ۲۰۱۷ که بر روی موش‌های باردار انجام شده نیز مطابقت دارد [۳۶].

علی‌رغم آن‌که تغییرات MNCV پس از نورویاتی CCI کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته است، تخریب الیاف اعصاب حرکتی پس از نورویاتی CCI گزارش شده است [۳۷]. بازیابی عملکرد عصب محیطی پس از آسیب، عمدتاً به شدت آسیب عصب و دمیلینه شدن آن بستگی دارد که معمولاً توسط الکترونورمیوگرافی ارزیابی می‌شود. در مطالعه ما کاهش MNCV مشاهده شده در موش‌های گروه Vehicle-CCI نیز با مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد [۳۸]. و اگرچه تا کنون مطالعه‌ای در خصوص اثرات پیشگیری‌کننده تجویز مزمن نورواستروئیدها بر پاسخ‌های الکتروفیزیولوژیک عصب سیاتیک در مدل درد نورویاتیکی صورت نگرفته است، بر اساس مطالعات انجام شده، برای اولین بار اثرات مفید احتمالی استروئیدهای پروژسترون و پرگنولون (یک پیش‌ساز پروژسترون) برای درمان نورویاتی محیطی توسط Koenig و همکارانش (۱۹۹۵) پیشنهاد شد. آن‌ها نشان دادند که تزریق موضعی هر دو استروئید پس از آسیب عصب سیاتیک، باعث افزایش تشکیل غلاف میلین و بازسازی عصب می‌شود [۳۴]. همچنین، اثرات مفید احتمالی استروئید پروژسترون برای درمان نورویاتی محیطی توسط جراحی و همکارانش [۲۳] نیز

مرکز تحقیقات فیزیولوژی و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان به جهت حمایت مالی تشکر می‌نمایند.

مشارکت و نقش نویسندگان

نقش هر یک از نویسندگان این مقاله به شرح زیر است: مرتضی جراحی، علی رشیدی پور و حسین علی صفاخواه: ایده و طراحی مطالعه، رویا حسینی: جمع‌آوری داده‌ها، رویا حسینی و مرتضی جراحی: آنالیز و تفسیر نتایج، همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

- [1] Ustaömer K, Sözyay S, Sarıfakioğlu B. Effect of estrogen and progesterone on nerve conduction studies during ovarian cycle. *Turk J Phys Med Rehabil* 2021; 67: 1250-12587. <https://doi.org/10.5606/tftrd.2021.6628> PMID:35141490 PMCID:PMC8790261
- [3] Ro LS, Jacobs JM. The role of the saphenous nerve in experimental sciatic nerve mononeuropathy produced by loose ligatures: a behavioural study. *Pain* 1993; 52: 359-369. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(93\)90170-T](https://doi.org/10.1016/0304-3959(93)90170-T) PMID:8384708
- [4] Ando M, Hashiguchi A, Okamoto Y, Yoshimura A, Hiramatsu Y, Yuan J, et al. Clinical and genetic diversities of Charcot-Marie-Tooth disease with MFN2 mutations in a large case study. *J Peripher Nerv Syst* 2017; 22: 191-199. <https://doi.org/10.1111/jns.12228> PMID:28660751 PMCID:PMC5697682
- [5] Kamm C, Zettl UK. Autoimmune disorders affecting both the central and peripheral nervous system. *Autoimmun Rev* 2012; 11: 196-202. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.05.012> PMID:21619947
- [6] Falvo E, Diviccaro S, Melcangi RC, Giatti S. Physiopathological role of neuroactive steroids in the peripheral nervous system. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 9000. <https://doi.org/10.3390/ijms21239000> PMID:33256238 PMCID:PMC7731236
- [7] Guindon J, Walczak JS, Beaulieu P. Recent advances in the pharmacological management of pain. *Drugs* 2007; 67: 2121-2133. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767150-00002> PMID:17927280
- [8] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33: 87-107. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90209-6) PMID:2837713
- [9] Farghaly HS, Abd-Ellatief RB, Mofatah MZ, Mostafa MG, Khedr EM, Kotb HI. The effects of dexmedetomidine alone and in combination with tramadol or amitriptyline in a neuropathic pain model. *Pain Phys* 2014; 17: 187-195. <https://doi.org/10.36076/ppj.2014/17/187>
- [10] Colleoni M, Sacerdote P. Murine models of human neuropathic pain. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1802: 924-933. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.10.012> PMID:19879943
- [11] Inoue T, Akahira JI, Suzuki T, Darnel AD, Kaneko C, Takahashi K, et al. Progesterone production and actions in the human central nervous system and neurogenic tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5325-5331. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-012096> PMID:12414909
- [12] Schumacher M, Hussain R, Gago N, Oudinet J-P, Mattern C, Ghomari A. Progesterone synthesis in the

است [۳۱] و در تنظیم بیان نوروتروفین که به نوبه خود درگیر بقای سلول است، نقش دارد [۴۴].

به این ترتیب، پروژسترون یک هورمون تخمدانی است که در کنترل نورواندوکرین تولید مثل نقش دارد. پروژسترون در تنظیم فیزیولوژیکی و عملکردهای عصبی شامل نوروتز، بقای عصبی، تمایز عصبی، سیناپتوز، تمایز گلیال، تشکیل میلین، عملکرد و پلاستیسیته سیناپسی نیز نقش دارد. همچنین در شرایط پاتولوژیک، محافظت عصبی، بقا، میلیناسیون مجدد و کاهش التهاب عصب را انجام می‌دهد [۴۵]. پروژسترون در سیستم عصبی مرکزی (CNS) و سیستم اعصاب محیطی (PNS) نیز ساخته می‌شود. چندین بررسی نشان داده است که CNS و PNS علاوه بر آن‌که قادر به تولید نوروستروئیدها هستند، بنوبه خود، اهداف عملکرد نوروستروئیدها نیز هستند [۸].

مطالعات الکتروفیزیولوژیک نشان داده است که در وضعیت نوروپاتی بین میزان α -TNF و سرعت هدایت عصب یک رابطه معنی‌دار منفی وجود دارد [۴۶، ۴۷]. بر این اساس، این‌که پروژسترون در وضعیت نوروپاتی با کاهش فعالیت آستروسیت‌ها و میکروگلیاها میزان α -TNF را در طناب نخاعی کاهش می‌دهد [۴۸]. با مطالعه ما هم‌خوانی دارد.

به عنوان نتیجه‌گیری باید اذعان کرد که یک استراتژی ممکن برای یافتن نشانه‌های تشخیصی از طریق اندازه‌گیری سرعت هدایت عصب و تغییر تمرکز به سوی اهداف بیولوژیکی جدید مانند اهداف مرتبط با رویدادهای مولکولی مربوط به تعامل استروئیدهای عصبی فعال با گیرنده‌های گابا-A، امکان بررسی و طراحی درمان‌های دارویی موثرتری را برای PN فراهم می‌کند و در این رابطه پروژسترون که قادر به تعدیل عملکرد سیستم عصبی هستند، ممکن است یک گزینه امیدوارکننده باشد. از محدودیت‌های این مطالعه قطع برق در میانه کار، وجود نویز در محیط اطراف کار و تغییرات درجه حرارت اتاق و محیط اطراف عصب بود که کنترل آن یک مشکل جدی محسوب می‌شد.

در خاتمه پیشنهاد می‌شود که اثرات بهبودبخش پروژسترون بر سرعت هدایت عصب برای روزهای طولانی‌تر دنبال شود و همچنین مکانیسم اثر دقیق آن در مطالعات بعدی بررسی شود. این نتایج باید الهام‌بخش مطالعات جدید در کلینیک برای درمان صدمات عصبی در انسان باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی با عنوان مشابه است. نویسندگان از همکاری اعضای محترم

[https://doi.org/10.1016/S0891-6632\(88\)80006-0](https://doi.org/10.1016/S0891-6632(88)80006-0)

PMid:2853165

[25] Moreira M, Cruz G, Lopes M, Albuquerque A, Leal-Cardoso J. Effects of terpineol on the compound action potential of the rat sciatic nerve. *Brazil J Med Biol Res* 2001; 34: 1337-1340.

<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2001001000015>

PMid:11593310

[26] Fidancı H, Öztürk İ. The relationship between nerve conduction studies and neuropathic pain in sciatic nerve injury due to intramuscular injection. *Korean J Pain* 2021; 34: 124-131.

<https://doi.org/10.3344/kjp.2021.34.1.124>

PMid:33380575 PMCID:PMC7783856

[27] Jarrahi M, Hasani R, Rashidy-Pour A, Safakhah HA. Preventive effects of progesterone against neuropathic pain responses in a rat model of chronic constriction injury. *Koomesh* 2019. (Persian).

[28] Dableh LJ, Henry JL. Progesterone prevents development of neuropathic pain in a rat model: Timing and duration of treatment are critical. *J Pain Res* 2011; 4: 91.

<https://doi.org/10.2147/JPR.S17009>

PMid:21559355 PMCID:PMC3085268

[29] Guida F, De Gregorio D, Palazzo E, Ricciardi F, Boccella S, Belardo C, et al. Behavioral, biochemical and electrophysiological changes in spared nerve injury model of neuropathic pain. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 3396.

<https://doi.org/10.3390/ijms21093396>

PMid:32403385 PMCID:PMC7246983

[30] Belelli D, Hogenkamp D, Gee KW, Lambert JJ. Realising the therapeutic potential of neuroactive steroid modulators of the GABAA receptor. *Neurobiol Stress* 2020; 12: 100207.

<https://doi.org/10.1016/j.vnstr.2019.100207>

PMid:32435660 PMCID:PMC7231973

[31] Colciago A, Bonalume V, Melfi V, Magnaghi V. Genomic and non-genomic action of neurosteroids in the peripheral nervous system. *Front Neurosci* 2020; 14: 796.

<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00796>

PMid:32848567 PMCID:PMC7403499

[32] Hosseini M, Karami Z, Janzadneh A, Jameie SB, Mashhadi ZH, Yousefifard M, Nasirinezhad F. The effect of intrathecal administration of muscimol on modulation of neuropathic pain symptoms resulting from spinal cord injury; an experimental study. *Emergency* 2014; 2: 151.

[33] Zhou LJ, Peng J, Xu YN, Zeng WJ, Zhang J, Wei X, et al. Microglia are indispensable for synaptic plasticity in the spinal dorsal horn and chronic pain. *Cell Rep* 2019; 27: 3844-3859.e6.

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.05.087>

PMid:31242418 PMCID:PMC7060767

[34] Koenig HL, Schumacher M, Ferzaz B, Thi AN, Ressouches A, Guennoun R, et al. Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. *Science* 1995; 268: 1500-1503.

<https://doi.org/10.1126/science.7770777>

PMid:7770777

[35] Joksimovic SL, Covey DF, Jevtovic-Todorovic V, Todorovic SM. Neurosteroids in pain management: a new perspective on an old player. *Front Pharmacol* 2018; 9: 1127.

<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01127>

PMid:30333753 PMCID:PMC6176051

[36] Onodera Y, Kanao-Kanda M, Kanda H, Sasakawa T, Iwasaki H, Kunisawa T. Pregnancy suppresses neuropathic pain induced by chronic constriction injury in rats through the inhibition of TNF- α . *J Pain Res* 2017; 10: 567.

<https://doi.org/10.2147/JPR.S121810>

PMid:28331359 PMCID:PMC5349853

[37] Zhu C, Liu N, Tian M, Ma L, Yang J, Lan X, et al. Effects of alkaloids on peripheral neuropathic pain: a review. *Chin Med* 2020; 15: 1-24.

<https://doi.org/10.1186/s13020-020-00387-x>

PMid:33024448 PMCID:PMC7532100

[38] Daemen M, Kurvers H, Bullens P, Slaaf D, Freling G, Kitslaar P, Van den Wildenberg F. Motor denervation induces altered muscle fibre type densities and atrophy in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1998; 247: 204-

nervous system: implications for myelination and myelin repair. *Front Neurosci* 2012; 6: 10.

<https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00010>

PMid:22347156 PMCID:PMC3274763

[13] Roof RL, Duvdevani R, Braswell L, Stein DG. Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats. *Exp Neurol* 1994; 129: 64-69.

<https://doi.org/10.1006/exnr.1994.1147>

PMid:7925843

[14] Azcoitia I, Leonelli E, Magnaghi V, Veiga S, Garcia-Segura LM, Melcangi RC. Progesterone and its derivatives dihydroprogesterone and tetrahydroprogesterone reduce myelin fiber morphological abnormalities and myelin fiber loss in the sciatic nerve of aged rats. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 853-860.

[https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00234-8)

PMid:12927767

[15] Melcangi RC, Garcia-Segura LM. Therapeutic approaches to peripheral neuropathy based on neuroactive steroids. *Exp Rev Neurother* 2006; 6: 1121-1125.

<https://doi.org/10.1586/14737175.6.8.1121>

PMid:16893339

[16] Cervantes M, González-Vidal MaD, Ruelas R, Escobar A, Morali G. Neuroprotective effects of progesterone on damage elicited by acute global cerebral ischemia in neurons of the caudate nucleus. *Arch Med Res* 2002; 33: 6-14.

[https://doi.org/10.1016/S0188-4409\(01\)00347-2](https://doi.org/10.1016/S0188-4409(01)00347-2)

PMid:11825624

[17] Jiang N, Chopp M, Stein D, Feit H. Progesterone is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion in male rats. *Brain Res* 1996; 735: 101-107.

[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00605-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00605-1)

PMid:8905174

[18] Thomas AJ, Nockels RP, Pan HQ, Shaffrey CI, Chopp M. Progesterone is neuroprotective after acute experimental spinal cord trauma in rats. *Spine* 1999; 24: 2134.

<https://doi.org/10.1097/00007632-199910150-00013>

PMid:10543012

[19] Leonelli E, Bianchi R, Cavaletti G, Caruso D, Crippa D, Garcia-Segura LM, et al. Progesterone and its derivatives are neuroprotective agents in experimental diabetic neuropathy: a multimodal analysis. *Neuroscience* 2007; 144: 1293-1304.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.11.014>

PMid:17187935

[20] Roglio I, Bianchi R, Gotti S, Scurati S, Giatti S, Pesaresi M, et al. Neuroprotective effects of dihydroprogesterone and progesterone in an experimental model of nerve crush injury. *Neuroscience* 2008; 155: 673-685.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.06.034>

PMid:18625290

[21] Coronel MF, Labombarda F, Roig P, Villar MJ, De Nicola AF, González SL. Progesterone prevents nerve injury-induced allodynia and spinal NMDA receptor upregulation in rats. *Pain Med* 2011; 12: 1249-1261.

<https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2011.01178.x>

PMid:21714841

[22] Kim MJ, Shin HJ, Won KA, Yang KY, Ju JS, Park YY, et al. Progesterone produces antinociceptive and neuroprotective effects in rats with microinjected lysophosphatidic acid in the trigeminal nerve root. *Mol Pain* 2012; 8: 1744-8069-8-16.

<https://doi.org/10.1186/1744-8069-8-16>

PMid:22429647 PMCID:PMC3315401

[23] Jarahi M, Sheibani V, Safakhah H, Torkmandi H, Rashidy-Pour A. Effects of progesterone on neuropathic pain responses in an experimental animal model for peripheral neuropathy in the rat: a behavioral and electrophysiological study. *Neuroscience* 2014; 256: 403-411.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.10.043>

PMid:24184116

[24] Julu P. Essential fatty acids prevent slowed nerve conduction in streptozotocin diabetic rats. *J Diabet Complications* 1988; 2: 185-188.

[44] Singh M, Su C. Progesterone, brain-derived neurotrophic factor and neuroprotection. *Neuroscience* 2013; 239: 84-91.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.09.056>
 PMid:23036620 PMCid:PMC3582842

[45] González-Orozco JC, Camacho-Arroyo I. Progesterone actions during central nervous system development. *Front Neurosci* 2019; 13: 503.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00503>
 PMid:31156378 PMCid:PMC6533804

[46] Hussain G, Rizvi SA, Singhal S, Zubair M, Ahmad J. Serum levels of TNF- α in peripheral neuropathy patients and its correlation with nerve conduction velocity in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr* 2013; 7: 238-2342.
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2013.02.005>
 PMid:24290092

[47] El Sheikh WM, Alahmar IE, Salem GM, El-Sheikh MA. Tumor necrosis factor alpha in peripheral neuropathy in type 2 diabetes mellitus. *Egypt J Neurol Psychiatr Neurosurg* 2019; 55: 1-7.
<https://doi.org/10.1186/s41983-019-0080-0>

[48] Polikarpova A, Levina I, Sigai N, Zavarzin I, Morozov I, Rubtsov P, et al. Immunomodulatory effects of progesterone and selective ligands of membrane progesterone receptors. *Steroids* 2019; 145: 5-18.
<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.02.009>
 PMid:30753845

[2] Zhuo M. Neuronal mechanism for neuropathic pain. *Mol Pain* 2007; 3: 1744-8069-3-14.
<https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-14>
 PMid:17553143 PMCid:PMC1904186

208.
[https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(98\)00304-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(98)00304-8)
 PMid:9655629

[39] Pan DS, Liu WG, Yang XF, Cao F. Inhibitory effect of progesterone on inflammatory factors after experimental traumatic brain injury. *Biomed Environ Sci* 2007; 20: 432.

[40] Hornung RS, Benton WL, Tongkhuya S, Uphouse L, Kramer PR, Averitt DL. Progesterone and allopregnanolone rapidly attenuate estrogen-associated mechanical allodynia in rats with persistent temporomandibular joint inflammation. *Front Integr Neurosci* 2020; 14: 26.
<https://doi.org/10.3389/fnint.2020.00026>
 PMid:32457584 PMCid:PMC7225267

[41] Magnaghi V, Veiga S, Ballabio M, Gonzalez LC, Garcia-Segura LM, Melcangi RC. Sex-dimorphic effects of progesterone and its reduced metabolites on gene expression of myelin proteins by rat Schwann cells. *J Peripher Nerv Syst* 2006; 11: 111-118.
<https://doi.org/10.1111/j.1085-9489.2006.00075.x>
 PMid:16787508

[42] Sorge RE, Totsch SK. Sex differences in pain. *J Neurosci Res* 2017; 95: 1271-1281.
<https://doi.org/10.1002/jnr.23841>
 PMid:27452349

[43] Pang Y, Dong J, Thomas P. Progesterone increases nitric oxide synthesis in human vascular endothelial cells through activation of membrane progesterone receptor- α . *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015; 308: E899-E911.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00527.2014>
 PMid:25805192

Preventive effects of progesterone on the electrophysiological response of sciatic nerve in the chronic constriction injury model of neuropathic pain in the rat

Morteza Jarrahi (Ph.D)^{*1,2}, Hossein Ali Safakhah (M.Sc)^{1,2}, Roya Hasani (Ph.D)¹, Ali Rashidy_pour (Ph.D)^{1,2}

1- Laboratory of Neuropathic Pain and Electrophysiology, Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2 – Dept. of Physiology, school of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 9122312187 jarrahi44@yahoo.com

Received: 19 May 2022 ; Accepted: 10 May 2023

Introduction: Peripheral neuropathy (PN) is resulted from damage to the peripheral nervous system (PNS) and usually causes weakness, numbness, and neuropathic pain, which is a type of chronic pain. Despite the variety of treatment options, treating neuropathic pain faces challenges and the existing treatments are not yet satisfactory. Nervous steroids show important physiological regulators of PNS function. Progesterone is a neurosteroid that has both analgesic and anti-inflammatory properties. Also, GABA-A receptors play an important role in mediating the effect of progesterone. This study was designed to determine whether progesterone can prevent electrophysiological deterioration of the sciatic nerve in the chronic constriction injury (CCI) model of neuropathic pain in rats and that do this effect through GABA-A receptors.

Materials and Methods: In this study, 140 male Wistar rats in 14 groups (n=10) were used. Neuropathic pain was created by the CCI method in the relevant groups. After CCI induction, progesterone and bicuculline or their vehicles were administered daily until day 13 post-CCI. After that, nerve conduction velocity (NCV) tests were performed according to Julu methods on days 14 and 27 after CCI.

Results: According to the findings of this study, daily injections of progesterone for 12 days before complete neuropathic pain evolution in CCI rats could prevent significantly the reduction of sensory and motor nerve conduction velocities compared to the CCI group on days 14 and 27 after CCI. Furthermore, this effect of progesterone was blocked by bicuculline administration

Conclusion: The findings of this study showed that before complete neuropathic pain evolution, chronic progesterone administration may prevent electrophysiological disorders of the sciatic nerve (at least to some extent through GABA-A receptors) in CCI-induced peripheral neuropathy and these effects continue in the accepted range time of the CCI mode.

Keywords: Neuropathic pain, Sciatic Nerve, Progesterone, Bicuculin, electrophysiology