

## An investigation on the reparative effects of boswellic acid on experimental spinal cord injury in a Wistar rat model

Razmian, N.<sup>1</sup>, Hoveizi, E.<sup>2\*</sup>, Naddaf, H.<sup>3</sup>

1- DVSc Candidate, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

\*Correspondence author's email: e.hoveizi@scu.ac.ir

(Received: 2023/9/25 Accepted: 2023/12/6)

### Abstract

Spinal cord injuries (SCI) present significant challenges in terms of treatment, often resulting in long-term disabilities. Currently, effective therapies for these injuries are lacking, highlighting the need for innovative and efficacious treatment approaches. In recent years, natural products, including boswellic acid, have been investigated as potential therapeutic agents for various diseases. This study aimed to assess the effects of boswellic acid on spinal cord injury. Twelve male Wistar rats were randomly divided into two groups: the control group (SCI) and the boswellic acid group (BoA), each consisting of six rats. The SCI group did not receive any treatment for 56 days following spinal cord injury induction, while the BoA group received daily oral doses of 10 mg/kg boswellic acid for the same duration. Motor recovery was evaluated using the Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) locomotor test and spinal tissue analysis was conducted to evaluate the reparative effects of boswellic acid on the injured spinal cord. The results demonstrated a significant improvement in motor recovery in the boswellic acid-treated rats compared to the control group, as indicated by higher BBB scores ( $p < 0.001$ ). Histological analysis revealed notable enhancements in repair processes, including reduced lesion volume and increased myelination at the site of spinal cord injury in the BoA group compared to the SCI group ( $p < 0.001$ ). This study provides evidence of the reparative effects of boswellic acid on experimental spinal cord injury in the Wistar rat model, suggesting its potential as a therapeutic agent for the treatment of spinal cord trauma.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Animal model, Boswellic acid, Inflammation, Neuroprotection, Spinal cord injury.

## بررسی اثرات ترمیمی بوسولیک اسید بر عارضه تجربی نخاع در مدل حیوانی موش صحرائی

نوید رزمیان<sup>۱</sup>، الهام حویزی<sup>۲\*</sup>، هادی نداف<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دوره دستیاری تخصصی جراحی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد بخش جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

\*نویسنده مسئول مکاتبات : e.hoveizi@scu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۷/۳ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۹/۱۵)

### چکیده

یکی از مشکلات درمانی بیماران تروماتیک، مشکلات مربوط به نخاع است که منجر به ناتوانی‌های طولانی مدت می‌گردد. در حال حاضر، درمانی مؤثر برای این بیماری وجود ندارد و نیاز به درمان‌های جدید و مؤثر برای ترمیم مجروحیت نخاعی احساس می‌شود. در سال‌های اخیر، محصولات طبیعی، از جمله بوسولیک اسید، به‌عنوان مواد درمانی در بیماری‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در این مطالعه ۱۲ موش نر ویستار با وزن میانگین ۲۵۰ گرم در دو گروه با جمعیت ۶ موش تقسیم شدند. گروه کنترل (spinal cord injury; SCI) که هیچ درمانی تا روز ۵۶ بعد از ایجاد عارضه نخاعی دریافت نکرد و گروه بوسولیک اسید (BoA) که به‌صورت روزانه مقدار ۱۰ mg/Kg بوسولیک اسید به‌صورت خوراکی تا روز ۵۶ دریافت کرد. آزمون‌های حرکتی با سو-بتی-برسناهان (Basso, Beattie and Bresnahan; BBB) برای ارزیابی بازیابی حرکتی موش‌ها و تجزیه و تحلیل بافت نخاعی به‌منظور ارزیابی اثرات ترمیمی بوسولیک اسید انجام شد. درمان با بوسولیک اسید بهبود قابل توجهی در بازیابی حرکتی موش‌ها پس از صدمه نخاعی داشت. این پیشرفت با نمره‌ی بالاتر آزمون‌های حرکتی با سو-بتی-برسناهان نشان داده شد ( $p < 0.001$ ). همچنین، نتایج حاصل از بررسی مقاطع بافتی نشان‌دهنده بهبود روند ترمیم، کاهش حجم عارضه و افزایش میلینه‌شدن رشته‌های عصبی در محل آسیب نخاعی در گروه دریافت‌کننده بوسولیک اسید به‌صورت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل شد ( $p < 0.001$ ). نتایج این مطالعه نشان داد که بوسولیک اسید اثرات ترمیمی در عارضه تجربی نخاع در مدل موش نژاد ویستار دارد و ممکن است به‌عنوان یک عامل درمانی برای درمان صدمات نخاعی مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: ضایعه نخاعی، بوسولیک اسید، محافظت عصبی، التهاب، مدل حیوانی.

## مقدمه

یکی از مهم‌ترین مشکلات درمانی بیماران تروماتیک، مشکلات مربوط به نخاع، متعاقب آسیب‌های وارده به ستون فقرات و نخاع می‌باشد (Khomejani et al., 2021). رخداد عارضه‌های نخاعی در قشر جوان جامعه‌های کنونی بیشتر بوده و گاهی منجر به ناتوانی‌های طولانی مدت می‌شود. در واقع آسیب‌های وارد به نخاع منجر به ناتوانی فرد یا حیوان خواهد شد (Huang et al., 2015; Kim et al., 2017). آسیب‌های نخاعی به دودسته ضربه‌ای و غیر ضربه‌ای تقسیم می‌شوند، آسیب‌های ضربه‌ای یکی از مخرب‌ترین آسیب‌های نخاع می‌باشد که به طبع آن فرد دچار درجات مختلفی از فلجی بر اساس شدت و منطقه آسیب، از دست دادن توانایی حسی و همین‌طور اختلالات عملکردی مثنی‌ه و روده‌ها می‌باشد (Pickelsimer et al., 2010). آسیب‌های غیر ضربه‌ای نخاع معمولاً به علت تومور مهره‌ها، اسپاندیلوز مهره‌ها، فشار ناشی از تومورها، ایسکمی عروقی و ناهنجاری‌های مادرزادی رخ می‌دهد (Adams and Salam-Adams, 1991; Schmidt and Markovchick, 1992). آسیب‌های ضربه‌ای به صورت مستقیم و هم به واسطه ایجاد التهاب و آسیب‌های غیر ضربه‌ای با ایجاد التهاب در موضع می‌توانند باعث آسیب نخاعی شوند (Kim et al., 2017). توانایی سیستم اعصاب مرکزی جهت ترمیم خود به دنبال آسیب‌های تروماتیک و بیماری‌ها بسیار محدود می‌باشد. آسیب‌هایی که به نخاع وارد شود یکی از موارد مهم آسیب تروماتیک به دستگاه اعصاب مرکزی (CNS) می‌باشد. کوفتگی در نخاع که در اثر دررفتگی و یا شکستگی در ستون فقرات پس از بروز یک حادثه تروماتیک روی می‌دهد،

از جمله بیشترین موارد آسیب نخاعی در انسان می‌باشد. صدمات تروماتیک به نخاع منجر به مرگ سلول‌ها و دژنراسیون آکسون‌ها می‌شود که در نهایت با فقدان عملکرد حسی و حرکتی همراه می‌شود (Parr et al., 2008). آسیب اولیه در اثر نکرور بافت و آسیب به آکسون‌ها و مرگ نورون‌ها و سلول‌های گلیا ایجاد می‌شود. در نهایت آسیب ثانویه متعاقب آسیب آکسون و اختلال در غشاء سلول و سپس فعال‌شدن آبخارهای مولکولی و مسیرهای پیام‌رسان به وجود می‌آید. مرگ نورون‌ها و سلول‌های گلیا به دلیل تشکیل رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد. همچنین به‌طور هم‌زمان دمی‌لینه‌شدن و تجزیه میلین نیز در طناب نخاعی بروز می‌نماید. با افزایش زوائد در آستروسیت‌ها، جای نورون‌ها پر شده و در نهایت اسکار فشرده گلیال تشکیل و با ایجاد یک سد فیزیکی شیمیایی مانع از بازسازی آکسون‌ها می‌شود. در مجموع سلول‌های گلیا و نورون‌ها کاهش یافته و از بین می‌روند (Tzekou and Fehlings, 2014). آکسون‌ها عنصر اصلی نورون هستند که در طول درمان و بهبودی پس از آسیب به نخاع مورد توجه قرار می‌گیرند. استراتژی‌های درمانی مؤثر به درک کامل رشد آکسون و پاسخ‌های سلولی و نحوه تعدیل این پاسخ‌ها توسط مکانیسم‌های مولکولی و سلولی خاص در هر مرحله از پاسخ پاتوفیزیولوژیک بستگی دارد. درجه پاسخ را می‌توان با مراحل مانند: دژنراسیون و پسرقت آکسون، بازسازی آکسون در اسکارهای فیروتیک، بازسازی آکسون در بافت‌های عصبی زنده، جوانه‌زدن آکسون و پلاستیسیته سیناپسی موضعی تمایز داد (Kramer et al., 2017). گیاهان دارویی هزاران سال است که برای درمان انواع بیماری‌ها مورد استفاده

اثرات درمانی گزارش شده نیز به آن‌ها مربوط است (Estelami *et al.*, 2016). در حال حاضر هیچ روش قطعی جهت درمان عارضه‌ها و آسیب‌های نخاعی وجود نداشته و درمان‌های حمایتی صورت گرفته به‌منظور کاهش عوارض ناشی از آسیب‌های نخاعی می‌باشد (Emgård *et al.*, 2014; Lipinski *et al.*, 2015). بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات ترمیمی بوسولیک اسید بر عارضه تجربی نخاع در مدل حیوانی موش صحرایی نژاد ویستار است.

### مواد و روش‌ها

مطالعه از نوع مداخله‌گر تجربی آزمایشگاهی بود. برای انجام مطالعه، ۱۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار بالغ نر با وزن میانگین  $250 \pm 20$  گرم از پژوهشگاه رویان اصفهان تهیه گردید. پس از انتقال به خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز به‌منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن با محیط به مدت یک هفته با دسترسی آزاد به غذا و آب و با چرخه روشنایی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی در دمای محیط نگره‌داری ۲۵-۲۲ درجه سلسیوس تا روز انجام جراحی‌ها نگره‌داری شدند. تمامی اعمال انجام شده بر روی موش‌ها طبق پروتکل کمیته اخلاقی دانشگاه شهید چمران اهواز (کد اخلاق: EE/1401.2.24.220942/scu.ac.ir) صورت گرفت. کلیه‌ی آزمایشات در بازه زمانی ۱۰ الی ۱۲ صبح صورت گرفت. به‌منظور ایجاد نقیصه تجربی نخاع، ابتدا موش‌های صحرایی با داروی کتامین ۱۰ درصد (Bremer, Germany) با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین ۲ درصد (Alfasan, Holland) با دوز ۵

قرار می‌گیرند. گیاهان، ریشه‌ها، پیازها و میوه‌ها حاوی ترکیبات مختلفی هستند که به‌عنوان ترکیبات درمانی عمل می‌کنند. اخیراً طب سنتی در درمان برخی بیماری‌ها از جمله کنترل مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و خواص مدولاسیون رادیکال‌های آزاد اکسیژن (reactive oxygen species; ROS)، بسیاری از ترکیبات طبیعی می‌توانند برای کاهش رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولیدشده در کنترل مفید باشند. به همین دلیل مطالعه مکانیسم‌های عملکردی مؤثر آن‌ها حیاتی است (Zhang *et al.*, 2016). بسیاری از ترکیبات طبیعی مانند پلی‌فنول‌ها، اسیدهای فنولیک، کورکومینوئیدها، رسوراترول، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترپنوئیدها فعالیت محافظتی عصبی از خود نشان می‌دهند. بسیاری از پلی‌فنول‌ها فعالیت‌های بیولوژیکی مانند بازسازی کروماتین و تغییرات اپی ژنتیکی را کنترل می‌کنند. ترکیبات فنلی مانند رزمارینیک اسید، فلاونوئیدها، فرولیک، کلروژنیک، کافئیک، وانیلیک، اسید پی‌هیدروکسی بنزوئیک، اسید پروتوکاتچوئیک و اسید پی‌کوماریک عوامل آنتی‌اکسیدانی هستند. این عوامل می‌توانند انتقال هیدروژن، اهدای الکترون، مهار رادیکال‌های آزاد، کیلاسیون فلزی، تغییر سطوح آنتی‌اکسیدانی و فعال‌سازی آنزیم‌ها و تنظیم مسیرهای Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) را تعدیل کنند (Bagli *et al.*, 2016). بوسولیک اسیدها، جزء تری ترپنوئیدهای پنتاسیکلیک می‌باشند و بخش اسیدی از صمغ رزینی کندر را شامل می‌شوند (Sharma *et al.*, 2010). تخمین زده شده که اسیدهای بوسولیک ۳۰ درصد کندر را تشکیل می‌دهند و بخش عمده‌ای از

مفاصل به همراه حرکت جزئی اندام حرکتی خلفی و یا عدم حرکت اندام خلفی امتیاز ۰ تا ۷، قدم زدن ناهماهنگ امتیاز ۸ تا ۱۳ و راه رفتن هماهنگ و منظم روی اندام حرکتی خلفی و قدامی امتیاز ۱۴ تا ۲۱ را دریافت خواهد کرد. امتیازدهی توسط ۲ ناظر ثبت شد و در صورت عدم تفاهم نظر دو ناظر کمترین امتیاز ثبت گردید. جهت ارزیابی هیستومورفومتری برای بررسی حجم ضایعه و میلینه شدن رشته‌های عصبی، در انتهای دوره نگهداری به مدت ۵۶ روز، موش‌های صحرایی با استفاده از دوز بالای بیهوشی آسان‌کشی شده و قطعات موردنظر نخاع نمونه برداری شد. نمونه‌ها در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شده و ۲۴ ساعت بعد محلول فرمالین نمونه‌ها تعویض شد. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و مقاطع بافت‌شناسی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید. پس از پارافین زدایی مقاطع بافتی، به منظور تعیین حجم ضایعه بر حسب میلی‌متر مکعب از رنگ‌آمیزی همتاکسیلین-ائوزین و به منظور تعیین درصد میلینه شدن رشته‌های عصبی از رنگ‌آمیزی لوکسال-فست بلو جهت رنگ‌آمیزی میلین رشته‌های عصبی در مقاطع بافتی استفاده شد. برای رنگ‌آمیزی لوکسال فست بلو، مقاطع بافتی با استفاده از الکل ۹۵ درصد آبدهی شدند و مقاطع به مدت ۱۲ ساعت در محلول لوکسال فست بلو ۰/۱ درصد در دمای ۵۶ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس رنگ اضافی با الکل ۹۵ درصد شسته شد و پس از آن با آب مقطر شست-و شو گردید. سپس به مدت ۳۰ ثانیه در کربنات لیتیم ۰/۰۵ درصد و دوباره به مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰ درجه قرار داده شدند و آنگاه با آب مقطر شسته شدند. برش‌ها در محلول کرسیل ویوله برای ۳۰-۴۰ ثانیه و

میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شدند (Davis, 2008). به منظور ایجاد نقیصه تجربی نخاع در ناحیه پشتی موش صحرایی روی ستون مهره از محدوده مهره سینه‌ای شماره ۹ تا مهره سینه‌ای شماره ۱۲، یک خط برش طولی ایجاد شد. بعد از برش پوست و کندکاری عضلات، سقف مهره سینه‌ای شماره ۱۰ برداشته شد و نیمی از ضخامت نخاع به وسیله قیچی چشمی برش داده شد (Ke et al., 2023). سپس موضع جراحی توسط سرم نرمال سالین با دمای ۳۷ درجه سلسیوس شستشو شد و عضلات کندکاری شده با نخ بخیه پلی‌گلیکولیک اسید شماره ۳-۰ و پوست با نخ نایلون شماره ۳-۰ بخیه شد. جهت جلوگیری از عفونت‌های احتمالی روزانه ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین ۵ درصد (رویان دارو، ایران) به صورت عضلانی به مدت ۷ روز تزریق شد و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کتوپروفن ۱۰ درصد (رازک، ایران) به صورت زیر جلدی به مدت ۳ روز تزریق گردید (Ye et al., 2018). تعداد ۱۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار در ۲ گروه با جمعیت ۶ تایی تقسیم شده، گروه اول به عنوان گروه کنترل انتخاب شده و هیچ نوع درمانی در این گروه صورت نپذیرفت و در گروه دوم به عنوان گروه بوسولیک اسید (Prince herb, Korea) با غلظت ۱۰ mg/Kg به صورت خوراکی روزانه به موش‌های صحرایی داده شد (Al-Yahya et al., 2020). جهت ارزیابی عملکردی حرکتی به دنبال ایجاد نقیصه تجربی نخاع توسط آزمون‌های حرکتی باسو-بتی-برسناهان (Basso, Beattie and Bresnahan) در روزهای ۰، ۲، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ انجام گرفت. امتیازدهی در این روش به این گونه می‌باشد که حرکت

### یافته‌ها

نتایج به‌دست‌آمده (میانگین و انحراف معیار) از آزمون عملکردی حرکتی باسو-بتی-برسناهان از روز دوم بعد از ایجاد نقیصه تجربی نخاع تا روز ۵۶ بعد از ایجاد نقیصه تجربی نخاع در دو گروه دریافت‌کننده بوسیلیک اسید و کنترل در جدول ۱ نوشته شده است. نتایج به‌دست‌آمده از بررسی آزمون عملکردی حرکتی باسو-بتی-برسناهان در روز دوم بعد از ایجاد نقیصه تجربی در نخاع نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در عملکرد حرکتی بهتر گروه دریافت‌کننده بوسیلیک اسید نسبت به گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0/05$ ). همچنین نتایج به‌دست‌آمده از آزمون عملکردی حرکتی باسو-بتی-برسناهان در روز هفتم بعد از ایجاد نقیصه تجربی در نخاع نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار عملکرد حرکتی بهتر گروه دریافت‌کننده بوسیلیک اسید نسبت به گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0/01$ ). بررسی نتایج به‌دست‌آمده آزمون عمل کردی حرکتی باسو-بتی-برسناهان در روز ۱۴ بعد از ایجاد نقیصه تجربی نخاع نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار عملکرد حرکتی بهتر گروه دریافت‌کننده بوسیلیک اسید نسبت به گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0/01$ ). همچنین در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ نشان آزمون عملکردی حرکتی BBB نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بهتر گروه بهتر گروه دریافت‌کننده بوسیلیک اسید نسبت به گروه کنترل می‌باشد ( $p < 0/01$ ).

دو مرتبه در اتانول مطلق به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. در مرحله بعد لام‌ها به مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف حاوی گزیلول قرار داده شدند و پس از خشک شدن لام‌ها یک قطره چسب انتلان روی لام ریخته و روی آن لامل قرار داده شد و برای مطالعه با میکروسکوپ آماده گردید. (Bagheri *et al.*, 2021). مقاطع بافتی با استفاده از میکروسکپ نوری مدل نیکون (ECLIPSE E200, Japan) با بزرگ‌نمایی  $4\times$  مورد بررسی قرار گرفت و تصاویر مقاطع بافتی توسط نرم‌افزار Image J مورد آنالیز قرار گرفت.

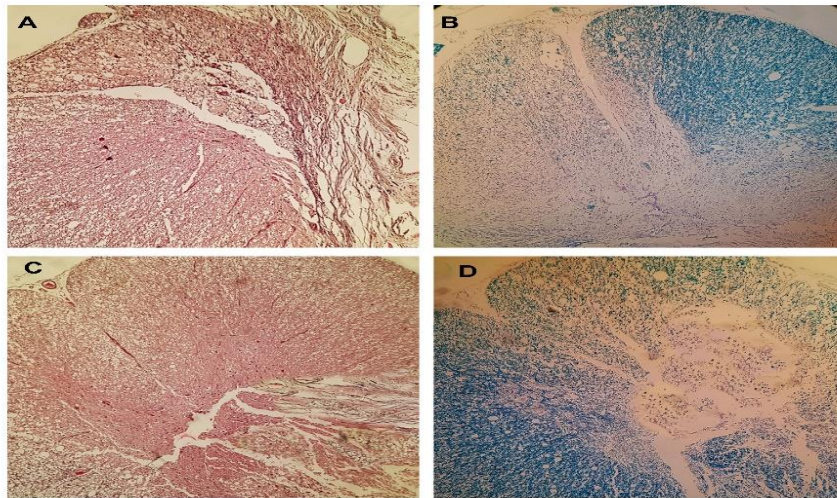
- تحلیل آماری داده‌ها: با توجه به نتایج آزمون همگنی واریانس‌ها و آزمون توزیع نرمال داده‌ها (Kolmogorov-Smirnoff)، داده‌های کمی به‌دست‌آمده، به‌صورت میانگین و انحراف معیار، ارائه شده و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها، در مورد داده‌های دارای توزیع غیرنرمال توسط آزمون آماری من-ویتنی (Mann-Whitney) و داده‌ها با توزیع نرمال توسط آزمون آماری تی‌غیروابسته (Independent *t*-Test) با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری،  $p < 0/05$  تعیین گردیده و توسط بسته نرم‌افزاری SPSS ویرایش ۲۶، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت همچنین نمودارهای ترسیم‌شده در این مطالعه توسط نرم‌افزار گراف پد (Graphpad Prism) ویرایش ۹/۵ انجام شد.

جدول ۱- نتایج آزمون عملکردی حرکتی BBB در دو گروه BoA و SCI از روز دوم تا روز پنجاه و شش بعد از ایجاد نقیصه تجربی نخاع (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

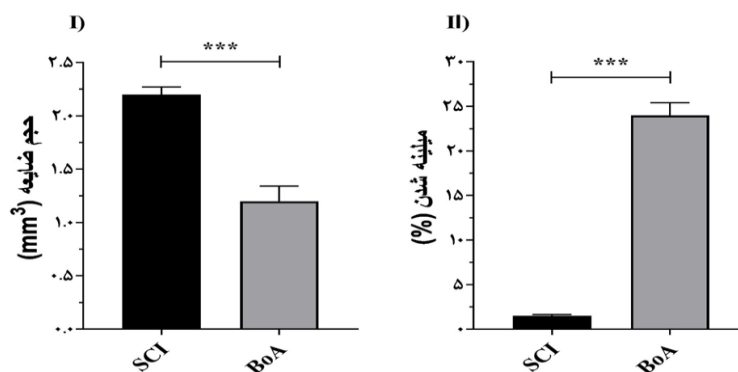
مقایسه‌ها	میانگین $\pm$ انحراف معیار	Z	p-value
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز دوم	1 $\pm$ 1/04	-3/317	0/001
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز هفتم	2/66 $\pm$ 1/77	-3/146	0/002
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز چهاردهم	5/66 $\pm$ 3/84	-3/146	0/002
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز بیست و یک	6/75 $\pm$ 3/93	-2/127	0/002
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز بیست و هشت	9/25 $\pm$ 5/49	-2/127	0/002
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز سی و پنج	10/08 $\pm$ 5/31	-3/207	0/001
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز چهل و دو	11/58 $\pm$ 5/83	-3/207	0/001
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز چهل و نه	12/41 $\pm$ 5/66	-3/207	0/001
مقایسه دو گروه BoA و SCI در روز پنجاه و شش	13/41 $\pm$ 5/66	-3/207	0/001

گروه دریافت‌کننده بوسولیک اسید با کمترین حجم ضایعه (به صورت میانگین ۱/۲ میلی متر مکعب) در نخاع و کمترین میزان ترمیم در گروه کنترل با بیشترین حجم ضایعه (به صورت میانگین ۲/۲ میلی متر مکعب) مشاهده گردید ( $p < 0/001$ ). نتایج به دست آمده از بررسی تصاویر مقاطع بافتی رنگ آمیزی شده با رنگ لوکسال فست بلو در دو گروه کنترل و دریافت‌کننده بوسولیک اسید نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در میزان میلینه شدن رشته‌های عصبی در محل نقیصه تجربی نخاع بعد از مدت ۵۶ روز در دو گروه می‌باشد ( $p < 0/001$ ). میزان میلینه شدن رشته‌های عصبی بر اساس درصد در محل عارضه نخاعی در گروه دریافت‌کننده بوسولیک اسید به صورت میانگین  $24 \pm 1/414$  درصد و در گروه کنترل به صورت میانگین  $1/5 \pm 0/1414$  درصد مشاهده شد (شکل ۲).

بررسی‌های بافتی نشان‌دهنده آن است که در گروه کنترل در محل عارضه سلول‌های دژنره و واکوتله شده بافتی، سلول‌های التهابی و بافت فیروز شده دیده می‌شود که گواهِ بر عدم رخداد ترمیم مناسب در این گروه می‌باشد. این در حالی است که در گروه دریافت‌کننده بوسولیک اسید حضور سلول‌های التهابی، بافت فیروزه نسبت به گروه کنترل کمتر بوده و این خود دلیل بر ترمیم بهتر در گروه دریافت‌کننده بوسولیک اسید نسبت به گروه کنترل می‌باشد (شکل ۱). نتایج به دست آمده از بررسی تصاویر مقاطع بافتی رنگ آمیزی شده با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اُئوزین در دو گروه کنترل و دریافت‌کننده بوسولیک اسید نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در حجم ضایعه نخاع در دو گروه می‌باشد. به این صورت که روند ترمیم بهتری در



شکل ۱- نمای ریزبینی از محل ترمیم آسیب با رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (H&E) و رنگ آمیزی لوکسال فست بلو در روز ۵۶ بعد از ایجاد عارضه نخاعی (بزرگ‌نمایی ۴×). A- رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین گروه کنترل، B- رنگ آمیزی لوکسال فست بلو گروه کنترل، C- رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین گروه بوسولیک اسید، D- رنگ آمیزی لوکسال فست بلو گروه بوسولیک اسید



شکل ۲- میزان حجم عارضه نخاعی (شکل ۲-۲) درصد میلینه شدن رشته‌های عصبی در محل نقیصه تجربی نخاع در پایان روز ۵۶ بعد از ایجاد عارضه نخاعی با سه بار تکرار (BoA: گروه بوسولیک اسید، SCI: گروه کنترل).  $p < 0.001$ \*\*\*,  $p < 0.01$ \*\* ,  $p < 0.05$ \*.

## بحث و نتیجه‌گیری

بروز واکنش‌های ترمیمی نامطلوب در طی دوره ترمیم، نشانگر عدم تاثیر نا مطلوب همانند تاخیر در روند ترمیم و همچنین تاثیر مثبت بوسولیک اسید بر روند ترمیم ضایعه تجربی نخاع می‌باشد. از آنجایی که آسیب نخاعی یک آسیب ویرانگر است که بار روانی و اقتصادی گسترده‌ای برای بیماران و دستگاه‌های مراقبت‌های بهداشتی ایجاد می‌کند و از طرفی درمان‌های فعلی شامل جراحی کاهش فشار ستون

در این مطالعه به بررسی مقایسه اثرات ترمیمی بوسولیک اسید بر روند ترمیمی بافت نخاع در محل ضایعه تجربی نخاع پرداخته شد. نتایج حاصل از این مطالعه، در تأیید یافته‌های مطالعات پیشین مبنی بر مؤثر بودن ماده بوسولیک اسید در بهبود پارامترهای عملکردی - حرکتی و هیستومورفومتری می‌باشد. عدم



بوسولیک بر عملکرد عصبی در مدل‌های حیوانی آسیب نخاعی پرداخته‌اند. به‌عنوان مثال در مطالعه‌ای که توسط ژو و همکاران در سال ۲۰۲۳ انجام گرفت نشان داده شد که اسید استیل-۱۱-کتو-بتا-بوسولیک (O-AKBA, Acetyl-11-keto- $\beta$ -boswellic acid, nuclear factor erythroid 2-related ) Nrf2/HO-1 factor 2- heme oxygenase-1) را در سلول‌های شوان فعال می‌کند تا استرس اکسیداتیو را کاهش دهد و ترمیم آسیب عصب سیاتیک را بهبود بخشد (Zhou *et al.*, 2023). در مطالعه‌ای دیگر که توسط وان و همکاران در سال ۲۰۲۲ صورت گرفت مشخص شد که در سطح مولکولی، اسید استیل-۱۱-کتو-بتا-بوسولیک می‌تواند بیان فاکتور نوروتروفیک را با مهار بیان میلوپراکسیداز و کاهش واکنش‌های التهابی افزایش دهد، که می‌تواند باعث افزایش غلاف میلین و بازسازی آکسون در عصب سیاتیک آسیب‌دیده شود (Wang *et al.*, 2022). مطالعه‌ای دیگر توسط کیم و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد که درمان با اسید بوسولیک باعث بهبود عملکرد حرکتی و کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو در مدل موش آسیب نخاعی می‌شود (Kim *et al.*, 2017). به‌طور مشابه، مطالعه دیگری توسط ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد که درمان با اسید بوسولیک منجر به بهبود عملکرد عصبی و کاهش آپوپتوز در مدل موش آسیب نخاعی خواهد شد (Zhang *et al.*, 2016). مطالعه‌ای توسط لی و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثرات کورکومین را بر آسیب نخاعی در موش‌ها بررسی کرد. تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی حاصل از این مطالعه نشان داد که درمان کورکومین منجر به کاهش التهاب و بهبود عملکرد عصبی می‌شود که با یافته‌های مطالعه در مورد

فقرات، درمان سفتی غیرمعمول ماهیچه‌ها و درمان توان‌بخشی علی‌رغم برخی پیشرفت‌ها در مدیریت بالینی که کیفیت زندگی بیمار را بهبود می‌بخشد، بهبودی بسیار محدودی دارد. لذا یافتن درمان‌های جایگزین برای عارضه‌های نخایی همچنان در اولویت است. در این راستا ژانگ و همکارانش بیان داشتند که استفاده از گیاهان دارویی می‌تواند جایگزین مناسبی به منظور درمان عارضه‌های نخاعی باشد (Zhang *et al.*, 2016). همچنین در تأیید نتیجه مطالعه ژانگ مبنی بر استفاده از گیاهان دارویی برای درمان عارضه نخایی، می‌توان به خواص گیاه بوسولیا که حاوی ماده موثره‌ی بوسولیک است و خواص ضدالتهابی اسید بوسولیک اشاره کرد (Siddiqui, 2011). علاوه بر این به بوسولیک اسید مؤثر برای درمان بیماری‌هایی چون فراموشی و همچنین تقویت حافظه در طب سنتی ایران و توسط اطبا اسلامی توصیه شده است (Karima *et al.*, 2010). مطالعات کاریما و همکاران نشان داده است که بوسولیک اسید می‌تواند به‌طور مثبت در توسعه مغز و به‌احتمال شکل‌گیری صحیح درخت‌های دندریتی و آکسون اثر داشته باشد و یک ارتباط مناسب بین آن‌ها برقرار کند (Karima *et al.*, 2010). همچنین عصاره اتانولی کندر (*Boswellia serrata*) که حاوی بوسولیک اسید می‌باشد به‌عنوان مهار تشکیل لوکوترین B4 شناخته شده است که یکی از واسطه‌های مهم در واکنش‌های التهابی است (Ammon *et al.*, 1991). آمون و همکارانش بیان داشتند که کندر حاوی بوسولیک اسید دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قوی و تعدیل‌کننده ایمنی است (Ammon, 2010). به دلیل اثرات ذکر شده اسید بوسولیک، برخی پژوهشگران به بررسی اثرات اسید

فاکتور نوروتروفیک و مهار بیان میلوپراکسیداز و کاهش آپوپتوز سلول‌های عصبی پتانسیل درمانی برای درمان آسیب‌های نخاعی دارد. با این حال، تحقیقات بیشتری برای درک بهتر مکانیسم‌های زیربنایی اثرات مشاهده‌شده و تعیین دوز و مدت‌زمان بهینه درمان موردنیاز است. علاوه بر این، آزمایش‌های بالینی در انسان برای تعیین ایمنی و اثربخشی اسید بوسولیک برای درمان آسیب‌های نخاعی موردنیاز است.

### سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه دوره دستیاری تخصصی جراحی دانشگاه شهید چمران اهواز دکتر نوید رزمیان با کد اخلاق EE/1401.2.24.220942/scu.ac.ir می‌باشد. نویسندگان از اساتید و معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز کمال تشکر و قدردانی را دارند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

اسید بوسولیک که قبلاً بحث شد، مطابقت دارد (Lee *et al.*, 2019). مطالعه‌ای توسط ژو و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام شد و اثرات رسوراترول، ترکیبی که در انگور و شراب قرمز یافت می‌شود، بر آسیب نخاعی در موش‌ها بررسی گردید. تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی نشان داد که درمان با رسوراترول منجر به کاهش التهاب، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز می‌شود که مشابه یافته‌های مطالعات روی اسید بوسولیک و کورکومین است (Xu *et al.*, 2020). مطالعه‌ای توسط وانگ و همکاران در سال ۲۰۲۰ اثرات اپی گالوکاتچین-۳-گالات (Epigallocatechin gallate; EGCG)، ترکیبی که در چای سبز یافت می‌شود را بر آسیب نخاعی در موش صحرایی را بررسی کرد. تجزیه و تحلیل بافت‌شناسی در این مطالعه نشان داد که درمان EGCG منجر به کاهش التهاب، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز و بهبود عملکرد عصبی می‌شود که با یافته‌های مطالعات روی اسید بوسولیک، کورکومین و رسوراترول مطابقت دارد (Wang *et al.*, 2020).

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه و مطالعات پیشین نشان می‌دهد که بوسولیک اسید با داشتن خواص ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی قوی و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی و همچنین اثر داشتن در فعال کردن مسیر سیگنالینگ Nrf2/HO-1 سلول‌های شوان، افزایش بیان

### منابع

- Adams, R.D. and Salam-Adams, M. (1991). Chronic Nontraumatic Diseases of the Spinal Cord. *Neurologic Clinics*, 9(3): 605-623.
- Al-Yahya, A.A., Asad, M., Sadaby, A., Alhussaini, MS. (2020). Repeat oral dose safety study of standardized methanolic extract of *Boswellia sacra* oleo gum resin in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

- Ammon, H. P. T., Mack, T., Singh, G. and Safayhi., H. (1991). Inhibition of Leukotriene B 4 Formation in Rat Peritoneal Neutrophils by an Ethanolic Extract of the Gum Resin Exudate of *Boswellia serrata*. *Planta Medica*, 57(03): 203-207.
- Ammon, H.P.T. (2010). Modulation of the immune system by *Boswellia serrata* extracts and boswellic acids. *Phytomedicine*, 17(11): 862-867.
- Amrita, S., Kumar Gupta, N. and Kumar Dixit, V. (2010). Complexation with phosphatidyl choline as a strategy for absorption enhancement of boswellic acid. *Drug Delivery*, 17(8): 587-595.
- Apostolia, T. and Fehlings, M.G. (2014). Treatment of Spinal Cord Injury with Intravenous Immunoglobulin G: Preliminary Evidence and Future Perspectives. *Journal of Clinical Immunology*, 34(S1): 132-138.
- Bagheri, E., Marandi, SM., Ghasemi, N., Rezaee, Z. (2021). Effect of swimming on oligodendrocytic cells and myelin tissue in corpus callosum of rat model of MS induced by Cuprizone. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*.
- Bagli, E., Goussia, A., Moschos, M.M., Agnantis, N. and Kitsos, G. (2016). Natural Compounds and Neuroprotection: Mechanisms of Action and Novel Delivery Systems. *In vivo*, 30(5): 535-547.
- Davis, J.A. (2008). Mouse and Rat Anesthesia and Analgesia. *Current Protocols in Neuroscience*, 42(1): Supplement 42.
- Emgård, M., Piao, J., Aineskog, H., Liu, J., Calzarossa, C., Odeberg, J., et al. (2014). Neuroprotective effects of human spinal cord-derived neural precursor cells after transplantation to the injured spinal cord. *Experimental Neurology*, 253(3): 138-145.
- Estelami, N., KhalajKondori, M. and SheikhzadehHesari, A. (2016). Aqueous Extract of Frankincense Impedes Aluminum Chloride-Induced Memory Impairment in Adult Male Rats. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*, 6(2): 839-845.
- Karima, O., Riazi, G., Yousefi, R., Movahedi, AA. (2010). The enhancement effect of beta-boswellic acid on hippocampal neurites outgrowth and branching (an in vitro study). *Neurological Sciences*.
- Ke, H., Yang, H., Zhao, Y., Li, T., Xin, D., Gai, C., Jiang, Z. and Wang, Z. (2023). 3D Gelatin Microsphere Scaffolds Promote Functional Recovery after Spinal Cord Hemisection in Rats.
- Khomejani Farahani, F., Fattahian, H.R., Asghari, A., and Mortazavi, P. (2021). Histopathological and immunohistochemical evaluation of the effect of tacrolimus on nerve regeneration following crushed sciatic nerve in mice. *Veterinary Clinical Pathology*, 10(59): 225-237.
- Kim, Y., Kim, J., Ahn, M. and Shin, T. (2017). Lithium ameliorates rat spinal cord injury by suppressing glycogen synthase kinase-3 $\beta$  and activating heme oxygenase-1. *Anatomy & Cell Biology*, 50(3): 207.
- Kramer, J.L., Minhas, N.K., Jutzeler, C.R., Erskine, E.L., Liu, L.J. and Ramer, M.S. (2017). Neuropathic pain following traumatic spinal cord injury: Models, measurement, and mechanisms. *Journal of Neuroscience Research*, 95(6): 1295-1306.
- Lee, Y.S., Cho, D.C., Kim, C.H., Han, I., Gil, E.Y. and Kim, K.T. (2019). Effect of curcumin on the inflammatory reaction and functional recovery after spinal cord injury in a hyperglycemic rat model. *The Spine Journal*, 19(12): 2025-2039.
- Lipinski, M.M., Wu, J., Faden, A.I. and Sarkar, C. (2015). Function and Mechanisms of Autophagy in Brain and Spinal Cord Trauma. *Antioxidants & Redox Signaling*, 23(6): 565-577.
- Mohajeri, D., Doustar, Y. and Rahmani, J. (2011). Antioxidant activity of Green tea extract against Isoniazid induced hepatotoxicity in the rats. *Veterinary Clinical Pathology*, 5(2): 1221-1256. [In Persian]
- Oveis, K., Riazi, Gh., Yousefi, R. and Moosavi Movahedi, A.A. (2010). The enhancement effect of beta-boswellic acid on hippocampal neurites outgrowth and branching (an in vitro study). *Neurological sciences*, 31(3): 315-520.
- Parr, A.M., Kulbatski, I., Zahir, T., Wang, X., Yue, C., Keating, A. and Tator, C.H. (2008). Transplanted adult spinal cord-derived neural stem/progenitor cells promote early functional recovery after rat spinal cord injury. *Neuroscience*, 155(3): 760-770.

- Pickelsimer, E., Eric, J.Sh. and Dulaney, A.W. (2010). Statewide Investigation of Medically Attended Adverse Health Conditions of Persons With Spinal Cord Injury. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 33(3): 221-231.
- Schmidt, R.D. and Markovchick, V. (1992). Nontraumatic spinal cord compression. *The Journal of Emergency Medicine*, 10(2): 189-199.
- Shishiegar, R., Habibiasl, B. and Ahmadizadeh, C. (2013). Study of sedative and anxiolytic effects of polar, semi-polar and nonpolar fractions of *Artemisia Aucheri* extract compared with diazepam in rats. *Veterinary Clinical Pathology*, 7(1): 1744-1821 [In Perisan]
- Siddiqui, M.Z. (2011). *Boswellia serrata*, a potential antiinflammatory agent: an overview. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 73(3): 255-261.
- Wang, D., Gao, Q., Wang, T., Kan, Zh., Li, X., et al. (2020). Green tea polyphenols and epigallocatechin-3-gallate protect against perfluorodecanoic acid induced liver damage and inflammation in mice by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *Food Research International*, 127:108628
- Wang, Y., Xiong, Z.L., Ma, X.L., Zhou, C., Huo, M.H., Jiang, X.W. and Yu, W.H. (2022). Acetyl-11-keto-beta-boswellic acid promotes sciatic nerve repair after injury: molecular mechanism. *Neural Regeneration Research*, 17(12): 2778-2784.
- Xu, B.P., Yao, M., Li, Z.J., Tian, Z.R., Ye, J., Wang, Y.J. and Cui, X.J. (2020). Neurological recovery and antioxidant effects of resveratrol in rats with spinal cord injury: a meta-analysis. *Neural Regeneration Research*, 15(3): 482-490.
- Ye, Y., Feng, T.T., Prng, Y.R., Hu, SH.Q. and Xu,T. (2018). The treatment of spinal cord injury in rats using bone marrow-derived neural-like cells induced by cerebrospinal fluid. *Neuroscience Letters*, 666: 85-91.
- Zhang, Q., Yang, H., An, J., Zhang, R., Chen, B. and Hao, D.J. (2016). Therapeutic Effects of Traditional Chinese Medicine on Spinal Cord Injury: A Promising Supplementary Treatment in Future. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016: 1-18.
- Zhou, C., Wang, Y., Zhang, Q., Zhou, G., Ma, X., Jiang, X. and Yu, W. (2023). Acetyl-11-keto-beta-boswellic acid activates the Nrf2/HO-1 signaling pathway in Schwann cells to reduce oxidative stress and promote sciatic nerve injury repair. *Planta Medica*, Article in press.