مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۹ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۶ صفحات ۱۰۴- ۹۹

تاثیر روغن کنجد بر تولید اینترفرون گاما و اینترلوکین -۱۰ از سلولهای TH1 و TH2 در موشهای مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی

دکتر قاسم مسیبی: استادیار ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک: نویسنده رابط
E-mail: gmosayebi@yahoo.com
علی قضاوی: کارشناس ارشد ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علو پزشکی اراک
محمد علی پایانی: کارشناس ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک

دریافت: ۸۵/۶/۱۰ پذیرش: ۸۶/۱/۲۹

چکیده

زمینه و اهداف: آنسفالومیلیت اتوایمیون تجربی (Experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) یک بیماری اتوایمیون التهابی تخریب کننده میلین سیستم اعصاب مرکزی با واسطه سلولهای CD4+TH1 است که به عنوان مدل حیوانی برای مولتیپل اسکلروزیس بکار می رود. تعدیل یا مهار پاسخ ایمنی TH1 در جلوگیری یا کاهش شدت بیماری موثر است. در این مطالعه تاثیر روغن کنجد در پیشگیری از شدت EAE و تاثیر آن بر روی پاسخهای TH1 و TH2 مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: EAE از طریق ایمونیزاسیون موشهای ۸ هفته ای با MOG_{35-55} همراه با ادجوانت کامل Freund ایجاد شد. درمان با روغن کنجد ۲ روز قبل از ایمونیزاسیون بصورت داخل صفاقی شروع شد. مقدار IFN-γ و IL-10 تولید شده در مایع رویی سلولهای طحالی کشت داده شده، بوسیله تکنیک الایزا اندازه گیری شد.

یافته ها: پس از تجویز روزانه روغن کنجد، علائم بالینی در موشهای مبتلا به EAE بطور معنی داری کاهش یافت(P=۰/۰۰۱). شروع بیماری در موشهای درمان شده نیز بطور معنی داری با تاخیر همراه بود. تولید IFN-γ توسط سلولهای تک هسته ای طحالی موشهای درمان شده بطور معنی داری کاهش داشت (P=۰/۰۰۰۱). تولید IL-10 توسط سلولهای تک هسته ای طحالی موشهای درمان شده بیشتر از گروه درمان نشده بود. همچنین میانگین نسبت IFN-γ به IL-10 در موشهای درمان شده کمتر از گروه درمان نشده بود(P=۰/۰۱).

نتیجه گیری: سلولهای TH1 با ترشح IFN-γ در پاتوژنز EAE دخیل اند. در این گزارش برای اولین بار مشخص شد که درمان با روغن کنجد از طریق کاهش سایتوکاین های TH1 و القای ترشح سایتوکاین های TH2 از پیشرفت EAE جلوگیری می کند. لذا، روغن کنجد ممکن است از طریق تعدیل پاسخ TH1 در درمان مولتیپل اسکلروزیس موثر باشد.

کلید واژه ها : آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی، مولتیپل اسکلروزیس، روغن کنجد، اینترفرون-گاما، اینترلوکین-۱۰

مقدمه

آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی، مدل حیوانی بیماری مولتیپل اسکلروزیس می باشد(۱). در این دسته از بیماریها سیستم عصبی مرکزی گرفتار می شود و پاسخ ایمنی سلولی (CD4+T-cells) نقش اساسی در پاتوژنز بیماری ایفا می کند(۲ و۳). سلولهای CD4+T شرکت کننده در پاسخهای ایمنی سلولی، به دو زیر گروه عمده TH1 و TH2 مجزا می شوند. سلولهای TH1 با تولید اینترفرون گاما (IFN-γ) و اینترلوکین۱۲ (IL-12) در تقویت و تشدید ایمنی سلولی و سلولهای TH2 با تولید IL-4, IL-5 و IL-10 در تقویت ایمنی هومورال نقش دارند. این دو دسته سلول در حالت سلامت اثر تنظیمی بر فعالیت یکدیگر دارند و عملکرد یکدیگر را کنترل می کنند(۴). مطالعات متعدد نشان می دهد که سلو لهای TH1 در ایمونوپاتوژنز بیماری مولتیپل اسکلروزیس و EAE نقش اساسی دارند(۵و ۶). سطح بالای IFN-γ در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس حاکی از فعالیت سلولهای TH1 می باشد(۹-۷). بیماریهای خود ایمن، از جمله بیماری مولتیپل اسکلروزیس، درمان اختصاصی ندارند. استفاده از کورتون ها و عوامل مهار کننده سیستم ایمنی متداول ترین روش درمانی است.

ایـن داروهـا باعـث تضعیف سیستم ایمنی می گردد و احتمال بروز سایر عفونت ها و سرطان ها را در این بیماران افزایش می دهد(۱۰).

به هر حال یکی از فرضیات مطرح در درمان این دسته از بیماریها، تعدیل پاسخهای ایمنی و گرایش پاسخ ایمنی سلولی از TH1 به سمت TH2 می باشد. به نظر می رسد که در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس تعدیل پاسخهای ایمنی سلولی TH1 می تواند در کنترل بیماری موثر باشد(۱۱).

گزارشات نشان می دهد روغن کنجد به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کند و در بهبود ضایعات بافتی و کاهش لیپید پراکسیداسیون موثر می باشد(۱۲). از طرفی گزارشات حاکی از آن است که روغن کنجد می تواند باعث واکنش آلرژیک گردد (۱۳). با توجه به اینکه سلول های TH2 با تولید IL-4 در واکنشهای آلرژیک دخالت دارند، این احتمال را می توان مطرح نمود که روغن کنجد با تقویت پاسخ TH2 بتواند پاسخ TH1 را مهار کند. بر این اساس در مطالعه حاضر به بررسی اثر روغن کنجد بر پاسخهای TH1 (IFN-γ) و TH2 (IL-10) در موشهای مبتلا به EAE پرداخته شد. IFN-γ و IL-10 به ترتیب به عنوان سیتوکاین های اصلی سلولهلی TH1 و TH2 محسوب می شوند و همچنین بر روی همدیگر اثر تنظیمی دارند

مواد و روش ها

جامعه مورد مطالعه، موش های خالص نژاد C57BL/6 با محدوده سنی ٦ تا ٨ هفته بودند که از انستیتوی پاستور خریداری شد. این مطالعه از نوع تجربی است که به صورت موردی/ شاهدی انجام شده است.

القا EAE : مقدار ۲۰۰ میکروگرم پپتید MOG35-55 با توالی (M-E-V-G-W-Y-R-S-P-F-S-R-V-V-H-L-Y-R-N-G-K) و درجه خلوص بیش از ۹۵٪ (خریداری شده از شرکت دیافارم روسیه)، در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سالین با ۱۰۰ میکرولیتر ادجوانت کامل فروند(شرکت سیگما)، مخلوط و به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت به هر موش C57BL/6 تزریق گردید. مقدار ٤۰۰ نانوگرم سم سیاه سرفه (سیگما) در حجم ٤۰۰-۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات در مرحله صفر و ٤۸ ساعت بعد از ایمونیزاسیون به صورت داخل صفاقی تجویز شد (١٤). جهت گروه کنترل نیز مراحل فوق اعمال شد با این تفاوت که به آنها پپتید MOG35-55 تجویز نشد. روند بیماری و تغییرات وزن موش ها روزانه مورد بررسی قرار گرفت و شدت بیماری از صفر(عدم ابتلا به بیماری)، یک(اختلال در حرکت دم)، دو(فلج شدن دم)، سه(اختلال در راه رفتن)، چهار(فلجی یک پا)، پنج (فلجی هر دو پا)، شش(فلجی کامل دست و پا) تا هفت(مرگ) درجه بندی شد (١٤و ١٥).

جهت بررسی تاثیر روغن کنجد بر روند بیماری EAE، ۲۰ سر موش سه روز قبل از ایجاد بیماری، به ۲ گروه (در هر گروه ۱۰ سر) با شرایط سنی و وزنی یکسان تقسیم شدند و به صورت زیر تا روز نوزدهم پس از ایجاد EAE، تحت درمان قرار گرفتند. گروه مطالعه: موشهای مبتلا به EAE که به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، روزانه ٤ میلی لیتر روغن کنجد به صورت داخل صفاقی دریافت کردند(١٦) و گروه شاهد: موشهای مبتلا به EAE که به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، روزانه٤ میلی لیتر بافر فسفات به صورت داخل صفاقی تجویز شد. در ضمن به ۵ سر موشی که از نظر جنس، نژاد، سن و وزن با دو گروه مذکور مشابه بودند و به عنوان موش های سالم غیر بیمار در نظر گرفته شده و در مرحله ایجاد بیماری، پپتید MOG35-55 را دریافت نکرده بودند، بافر فسفات سالین تجویز شد.

جداسازی و کشت سلولهای تک هسته ای از طحال: بعد از نخاعی نمودن موشها با رعایت شرایط استریل، طحال آنها برداشته شد. بافتها بطور مجزا در ۵ میلی لیتر محیط کشت RPMI-1640 (گیبکو) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله با قیچی جراحی تیزی کاملا خرد گردیده و از یک توری سیمی با منافذی به قطر ۰/۱ میلی متر عبور داده شد تا قطعات بافتی هضم نشده جدا گردد. سوسپانسیون سلولی در حجم ۳ میلی لیتر به آرامی بر روی حجم یکسانی از محیط گرادیان فایکول برده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دور ٦۰۰g و دمای ٤°C سانتریفیوژ گردید. در این مرحله سلولهای تک هسته ای بر روی محیط شیب غلظت باقی می مانند و سایر سلولها از جمله گلبولهای قرمز رسوب می کنند. سلولهای تک هسته ای، با دقت توسط پیپت پاستور برداشته شد و دو بار با بافر فسفات سالین شستشو و سانتریفیوژ گردید. رسوب سلولی در محیط کشت کامل حاوی ۱۰ درصد FCS[1] بصورت سوسپانسیونی حاوی 2×10^{6} cell/ml مخلوط گردید. این سلولها در پلیت های کشت ٢٤ خانه ای در حضور و عدم حضور پپتید MOG35-55 با غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر به مدت ۹۶ ساعت در انکوباتور با ۵ درصد CO_2 کشت داده شد.

اندازه گیری IL-10 و IFN-γ در مایع رویی کشت سلول:

بعد از ۹۶ ساعت کشت سلولهای تک هسته ای در حضور و عدم حضور آنتی ژن، مایع رویی جهت سنجش سایتوکاینهای IL-10 و IFN-γ ، جمع آوری شد. جهت سنجش IL-10 و IFN-γ به ترتیب از کیت IL-10 (cat No. M1000) و کیت IFN-γ (cat No. MIF00) ساخت شرکت آمریکایی R&D system استفاده شد. اختصاراً، غلظت های مختلفی(۱، ۱۰، ۱۰۰، ۵۰۰ ، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ پیکوگرم) از استاندارد IL-10 و IFN-γ در بافر رقیق کننده تهیه شد و بطور جداگانه در هر حفره ۱۰۰µl اضافه شد. نمونه ها (مایع رویی کشت سلول) نیز به صورت رقیق نشده و دوتایی به حفره های مورد نظر اضافه گردیدند. انکوباسیون به مدت ۲-۱/۵ ساعت در ۳۷°C انجام شد و پس از شستشو، کونژوگه های اختصاصی ضد IL-10 و IFN-γ با رقت ۱/۱۰۰۰ به پلیت اضافه گردید. پس از انکوباسیون به مدت ۲ ساعت در ۳۷°C و شستشو، سوبسترای آنزیمی (O- فنیل دی آمین) در حجم ۱۰۰µl به هر حفره اضافه

1. Fetal calf serum, FCS

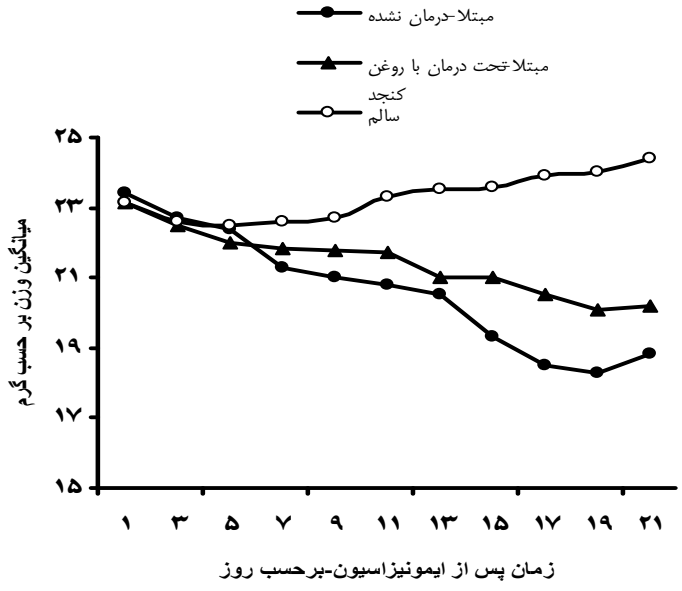
گردید. پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی انکوبه شد و در انتها، واکنش با اسید سولفوریک ۲۰ درصد متوقف شد. با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (مدل Stat Fax 2100)، میزان جذب نوری در طول موج ٤٥٠ نانومتر ثبت شد. با ترسیم منحنی استاندارد بر روی کاغذ لگاریتمی، غلظت سایتوکاین ها در نمونه های مورد آزمایش تعیین گردید.

آنالیز آماری: برای مقایسه اختلاف میانگین سیتوکاین ها، از روشهای غیر پارامتریک (Mann-Whitney U) استفاده گردید. از آزمون فریدمن Friedman به منظور بررسی تغییرات شدت بیماری در هر گروه و برای مقایسه وزن در روز های مختلف نیز از روش اندازه گیری تکراری استفاده گردید($P<۰/۰۵$). به عنوان سطح معنی دار بودن داده ها در نظر گرفته شد.

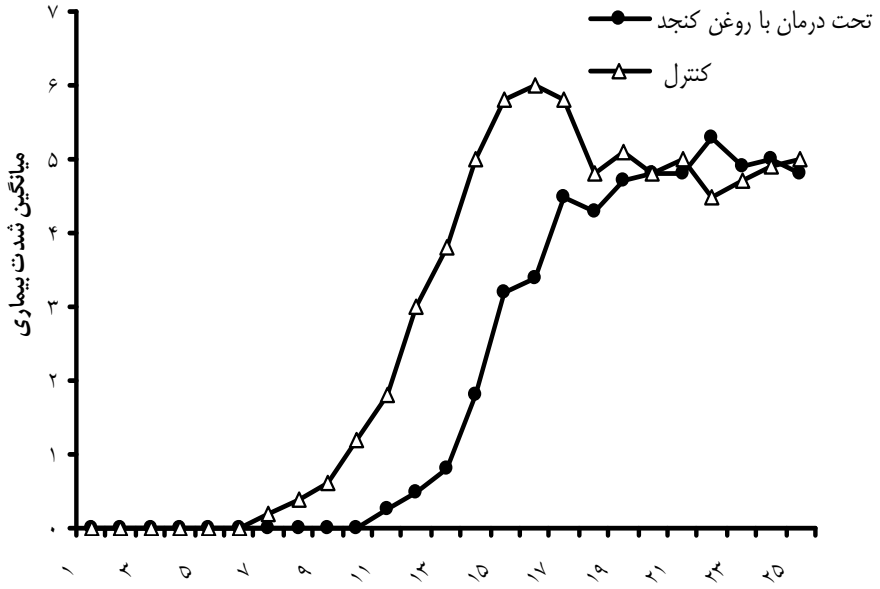
یافته ها

نتایج نشان داد که موشهای مبتلا به EAE که روغن کنجد دریافت کرده بودند، کاهش وزن کمتری در مقایسه با گروه کنترل داشتند ($P=۰/۰۱$)، (نمودار-۱). با بررسی روند بیماری در هر گروه و مقایسه روز شروع بیماری و شدت بیماری مشخص گردید که بین روز شروع بیماری و میانگین حداکثر شدت بیماری در دو گروه تفاوت معنی داری وجود دارد. روز شروع بیماری در موش های مبتلا به EAE درمان نشده، ۷ روز پس از زمان ایجاد EAE بود. در حالی که در موش های تحت درمان با روغن کنجد، زمان شروع علائم ۱۱ روز پس از القا EAE بود (نمودار-۲). همچنین حداکثر شدت بیماری (روزی که میانگین شدت بیماری در مقایسه با روزهای دیگر در هر گروه بیشتر است) در موشهای تحت درمان با روغن کنجد، ۲۲ روز پس از زمان ایمونیزاسیون و در گروه کنترل ١٦ روز پس از ایمونیزاسیون بود. همچنین میانگین حداکثر شدت بیماری در موش های تحت درمان با روغن کنجد (۰/۵±۲/۵) در مقایسه با موش های مبتلا به EAE درمان نشده (۱±٦) کمتر می باشد. میانگین شدت بیماری نیز در طول دوره درمان در موشهای تحت درمان با روغن کنجد(۰/٤±۲/٦) نسبت به گروه کنترل(۰/٦±٤/۲) کمتر بود($p=۰/۰۰۱$)، (نمودار-۲).

میزان تولیدIFN-γ و IL-10 در مایع رویی کشت سلولهای تک هسته ای موشهای مبتلا به EAE درمان نشده و درمان شده با روغن کنجد، که در حضور و عدم حضور پپتید MOG35-55 کشت داده شده بودند، با روش الایزا اندازه گیری شد (جدول-۱). نتایج نشان داد که میانگین غلظت IFN-γ در موشهای مبتلا به EAE درمان شده با روغن کنجد (۴۰±۵۲۷پیکوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با موشهای درمان نشده (۴۲±۹۸۰پیکوگرم در میلی لیتر) کمتر است($P=۰/۰۰۰۱$). میانگین غلظت IL-10 در موشهای درمان شده با روغن کنجد(۴۸±۶۹ پیکوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با گروه درمان نشده (۲۴±۵۸ پیکوگرم در میلی لیتر) بیشتر است ولی این اختلاف معنی دار نمی باشد(جدول-۱). با مقایسه نسبت IFN-γ به IL-10 تولید شده توسط سلولهای تک هسته ای موشهای مبتلا به EAE درمان شده (۴۳±۴۱) و درمان نشده (۱۳۹ ±۱۴۴) مشخص گردید که تفاوت معنی داری در میانگین نسبت IFN-γ به IL-10 در دو گروه وجود دارد ($P=۰/۰۱$).



نمودار-۱: مقایسه میانگین تغییرات وزن در موش های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی درمان نشده (●) و موش های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی تحت درمان با روغن کنجد(▲) و گروه سالم(○)



نمودار۲: مقایسه میانگین شدت بیماری در روزهای مختلف پس از ایمونیزاسیون در موش های مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی درمان نشده (کنترل) و تحت درمان با روغن کنجد

جدول۱: مقایسه میانگین غلظتIFN-γ و IL-10 در موشهای مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی درمان نشده و درمان شده با روغن کنجد

سیتوکاین ها	IL-10(pg/ml)		IFN-γ (pg/ml)	
گروهها	در حضور MOG35-55	در غیاب MOG35-55	در حضور MOG35-55	در غیاب MOG35-55
درمان شده با روغن کنجد	۶۹±۴۸	۲۶/۲±۲۰	۵۲۷ ±۴۰	۱۳±۱۲
درمان نشده (کنترل)	۵۸±۲۴	۲۴±۱۰	۹۸۰±۴۲	۵/۱±۳/۷
p.value	N.S*	N.S	۰/۰۰۰۱	N.S

N.S*(Not Significant) : غیر معنی دار

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که روغن کنجد باعث کاهش سطح IFN-γ در موشهای مبتلا به آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی می شود. IFN-γ یکی از سیتوکاین های مهم در پاسخ های ایمنی سلولی محسوب می شود که توسط برخی از سلولهای دفاعی از جمله ماکروفاژها و سلولهای T تولید می شود. سلولهای TH1 با تولیدIFN-γ نقش مهمی در ایمونوپاتوژنز مولتیپل اسکلروزیس و مدل حیوانی آن ایفا می کند(۱۷و۱۸). بررسی ها نشان می دهد که استفاده از Anti-IFN-γ می تواند در درمان بیماریهای خود ایمن وابسته به TH1 موثر باشد. گزارشات حاکی از افزایش سطح این سیتوکاین در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و آنسفالومیلیت خود ایمن تجربی است(۸و۹). نتایج حاضر نیز نشان می دهد بین میزان IFN-γ و شدت بیماری در موشهای مبتلا به EAE ارتباط وجود دارد. Sepulcre و همکاران نشان دادند که بین تعداد سلولهای CD8+T تولید کننده IFN-γ و شدت بیماری در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس ارتباط وجود دارد(۱۹). همچنین در موشهای مبتلا به EAE فاقدCXCR3، افزایش سطح IFN-γ باعث تشدید بیماری می شود(۲۰). در موشهای مبتلا به EAE که روغن کنجد دریافت کردند با کاهش تولید IFN-γ ، شدت بیماری نیز کاهش یافت. IFN-γ با افزایش ارتشاح لکوسیتی به مغز، فعال کردن ماکروفاژها و افزایش تولید نیتریت اکساید در تشدید بیماری موثر است(۲۰). از طرفی، گزارشاتی نیز وجود دارد که نشان می دهدIFN-γ در جلوگیری از EAE نقش دارد(۲۱). Tran و همکاران نشان دادند که روند بیماری EAE در موشهای فاقد IFN-γ یا رسپتور IFN-γ ، سریعتر و کشنده تر می باشد(۲۲). بنابر این وجود IFN-γ برای جلوگیری از بیماری ضروری است. احتمالاً غلظت کمتر یا بیشتر از حد فیزیولوژیک IFN-γ ، می تواند باعث تشدید بیماری گردد. مکانیسم اثر روغن کنجد در کاهش تولید IFN-γ و کاهش شدت بیماری در موشهای مبتلا به EAE روشن نیست. برخی از مطالعات انجام شده نشان می دهد که، روغن کنجد باعث القا آپپتوز در سلولهای سرطانی می شود(۲۳). Salem و همکاران نشان دادند که تجویز روغن کنجد از رشد و متاستاز سلولهای لمفومای رده EL4 در موشهای C57BL/6 جلوگیری می

کند(۲۴). همچنین Miyahara وهمکاران با تاثیر روغن کنجد بر روی سلولهای لنفوئید رده Molt-4B نشان دادند که روغن کنجد باعث آپپتوز در این سلولها می گردد (۲۵). بنابراین روغن کنجد ممکن است با القا آپپتوز یا مهار تکثیر سلولهای التهابی باعث کاهش تولید IFN-γ و کاهش شدت بیماری EAE گردد.
روغن کنجد همچنین ممکن است با تاثیر بر پاسخهای TH1 و TH2 و تعدیل این پاسخها، باعث کاهش شدت بیماری گردد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان IL-10 در موشهایی که تحت درمان با روغن کنجد بودند، در مقایسه با گروه درمان نشده بیشتر است. IL-10 سیتوکاینی است که توسط سلولهای TH2 تولید می شود و در تنظیم پاسخهای ایمنی نقش دارد(۴). این سیتوکاین می تواند باعث مهار پاسخهای TH1 گردد(۲۶). O'neill و همکاران نیز نشان دادند که IL-10 در جلو گیری از EAE موثر است(۲۷). روغن کنجد ممکن است با افزایش تولید IL-10 ، باعث مهار پاسخ TH1 و کاهش تولید IFN-γ و در نتیجه کاهش شدت بیماری شود. در تایید این نتایج، برخی گزارشات نشان می دهد که روغن کنجد باعث ایجاد آلرژی می شود(۱۳). با توجه به اینکه در واکنشهای آلرژیک پاسخ TH2 موثر است، از این جهت روغن کنجد می تواند در شیفت پاسخ به سمت TH2 موثر باشد. در هر صورت جهت اثبات این فرضیات، به مطالعات بیشتری نیاز است. در مجموع روغن کنجد با کاهش تولید IFN-γ و افزایش تولید IL-10 سبب تعدیل پاسخ ایمنی سلولی در موشهای مبتلا به EAE می شود و سبب تاخیر در شروع بیماری و کاهش شدت بیماری می گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک می باشد که بدینوسیله از زحمات همه همکاران محترم آن معاونت و شورای محترم پژوهشی تشکر و قدردانی می نماییم.

References

1. Ziemssen T, Ziemssen F. The role of the humoral immune system in multiple sclerosis (MS) and its animal model experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Autoimmun Rev.* 2005; **4**(7):460-7.
2. Yura M, Takahashi I, Serada M, Koshio T, Nakagami K, Yuki Y, et al. Role of MOG-stimulated Th1 type "light up" (GFP+) CD4+ T cells for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *J Autoimmun.* 2001;**17**(1):17-25.
3. Skundric DS, Cai J, Cruikshank WW, Gveric D. Production of IL-16 correlates with CD4+ Th1 inflammation and phosphorylation of axonal cytoskeleton in multiple sclerosis lesions.*J Neuroinflammation.* 2006; **3**:13.
4. Rengarajan J, Szabo SJ, Glimcher LH. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. *Immunol Today.* 2000; **21**(10):479-83.
5. De Andres C, Rodriguez-Sainz MC, Munoz-Fernandez MA, Lopez-Lazareno N, et al. Short-term sequential analysis of sex hormones and helper T cells type 1 (Th1) and helper T cells type 2 (Th2) cytokines during and after multiple sclerosis relapse. *Eur Cytokine Netw.* 2004;**15**(3):197-202.
6. Al-Shammri S, Rawoot P, Azizieh F, AbuQoora A, Hanna M, Saminathan TR, et al. Th1/Th2 cytokine patterns and clinical profiles during and after pregnancy in women with multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2004; **222**(1-2):21-7.
7. Rodriguez-Sainz Mdel C, Sanchez-Ramon S, de Andres C, Rodriguez-Mahou M, Munoz-Fernandez MA.Th1/Th2 cytokine balance and nitric oxide in cerebrospinal fluid and serum from patients with multiple sclerosis. *Eur Cytokine Netw*. 2002;**13**(1):110-4.
8. Renno T, Taupin V, Bourbonniere L, Verge G, Tran E, De Simone R, et al. Interferon-gamma in progression to chronic demyelination and neurological deficit following acute EAE. *Mol Cell Neurosci* 1998;**12**(6):376-89.
9. Wensky AK, Furtado GC, Marcondes MC, Chen S, Manfra D, Lira SA, et al. IFN-gamma determines distinct clinical outcomes in autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2005; **174**(3):1416-23.
10. Weiner HL. Immunosuppressive treatment in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2004; **223**(1):1-11.
11. Adorini L. Immunotherapeutic approaches in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2004; **223**(1):13-24.
12. Ramesh B, Saravanan R, Pugalendi KV. Influence of sesame oil on blood glucose, lipid peroxidation, and antioxidant status in streptozotocin diabetic rats. *J Med Food* 2005; **8**(3):377-81.
13. Gangur V, Kelly C, Navuluri L. Sesame allergy: a growing food allergy of global proportions? *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; **95**(1):4-11.
14. Costa O, Divoux D, Ischenko A, Tron F, Fontaine M. Optimization of an animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis achieved with a multiple MOG(35-55)peptide in C57BL6/J strain of mice. *J Autoimmun* 2003; **20**(1):51-61.

15. Mosayebi G, Moazzeni S.M , Sanati M.H. Effect of Sex on Susceptibility to Experimental Autoimmune Encephalomyelitis induced with MOG35-55 peptide in C57BL/6 Mice. *Medical Journal of Tabriz Univ. of Med. Sci* 2006; **27**(4): 95-100.
16. Hsu DZ, Liu MY. Effects of sesame oil on oxidative stress after the onset of sepsis in rats. *Shock* 2004; **22**(6):582-5.
17. Takeuchi H, Wang J, Kawanokuchi J, Mitsuma N, Mizuno T, Suzumura A.Interferon-gamma induces microglial-activation-induced cell death: a hypothetical mechanism of relapse and remission in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 2006; **22**(1):33-9.
18. Mana P, Linares D, Fordham S, Staykova M, Willenborg D. Deleterious role of IFNgamma in a toxic model of central nervous system demyelination. *Am J Pathol* 2006; **168**(5):1464-73.
19. Sepulcre J, Sanchez-Ibarrola A, Moreno C, de Castro P. Association between peripheral IFN-gamma producing CD8+ T-cells and disability score in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Cytokine* 2005; **32**(2):111-6.
20. Liu L, Huang D, Matsui M, He TT, Hu T, Demartino J, et al. Severe disease, unaltered leukocyte migration, and reduced IFN-gamma production in CXCR3-/- mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006; **176**(7): 4399-409.
21. Lin W, Kemper A, Dupree JL, Harding HP, Ron D, Popko B. Interferon-gamma inhibits central nervous system remyelination through a process modulated by endoplasmic reticulum stress.*Brain*. 2006;**129**(5):1306-18.
22. Tran EH, Prince EN, Owens T. IFN-gamma shapes immune invasion of the central nervous system via regulation of chemokines. *J Immunol* 2000; **164**(5):2759-68.
23. Jacklin A, Ratledge C, Welham K, Bilko D, Newton CJ. The sesame seed oil constituent, sesamol, induces growth arrest and apoptosis of cancer and cardiovascular cells.*Ann N Y Acad Sci* 2003; **1010**:374-80.
24. Salem ML. Systemic treatment with n-6 polyunsaturated fatty acids attenuates EL4 thymoma growth and metastasis through enhancing specific and non-specific anti-tumor cytolytic activities and production of TH1 cytokines. *Int Immunopharmacol* 2005; **5**(6):947-60.
25. Miyahara Y, Hibasami H, Katsuzaki H, Imai K, Osawa T, Ina K, et al. Sesaminol from sesame seed induces apoptosis in human lymphoid leukemia Molt 4B cells. *Int J Mol Me*d 2001;**7**(5):485-8.
26. Skapenko A, Niedobitek GU, Kalden JR, Lipsky PE, Schulze-Koops H. Generation and regulation of human Th1-biased immune responses in vivo: a critical role for IL-4 and IL-10. *J Immunol* 2004;**172**(10):6427-34.
27. O'neill EJ, Day MJ, Wraith DC. IL-10 is essential for disease protection following intranasal peptide administration in the C57BL/6 model of EAE. *J Neuroimmunol* 2006; **178**(1-2): 1-8.