

Effects of Salsalate on Traumatic Brain Injury in Male Rats: Neurological Function, Blood-Brain Barrier Permeability, Cerebral Edema, and Inflammatory Responses

Forouzan Sadeghimahalli^{1,2}

Amirreza Amiri³

Ali Siahposht-Khachaki^{2,4}

¹ Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Immunogenetic Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Medical Student, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 20, 2026; Accepted August 11, 2026)

Abstract

Background and purpose: Given the critical role of secondary injury in the progression of traumatic brain injury (TBI), identifying effective pharmacological therapies to attenuate neuroinflammation and improve neurological outcomes is of considerable importance. Salsalate is a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). This study investigated the potential neuroprotective effects of salsalate following TBI in rats.

Materials and methods: Fifty-six Wistar rats underwent TBI using the Marmarou method. Thirty minutes after injury, salsalate was administered intraperitoneally at doses of 25, 50, or 100 mg/kg body weight, with subsequent doses administered on the second and third days after injury. The Veterinary Coma Scale and Beam Walk and Beam Balance tests were performed before injury, immediately after recovery of consciousness, and at 24, 48, and 72 hours after injury. After 72 hours, cerebrospinal fluid (CSF) was collected from the cisterna magna and analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to determine the levels of IL-10, IL-1 β , and NF- κ B. Blood-brain barrier permeability was assessed using Evans blue dye.

Results: Intraperitoneal administration of salsalate at doses of 25 ($P < 0.05$) and 50 ($P < 0.01$) mg/kg significantly reduced cerebral edema and blood-brain barrier disruption and improved neurological and motor performance compared with the control group. The 50 mg/kg dose produced the greatest overall improvement in these outcomes ($P < 0.01$). The 100 mg/kg dose produced a greater reduction in the measured inflammatory markers.

Conclusion: Salsalate attenuated several manifestations of secondary brain injury following TBI, including cerebral edema and blood-brain barrier disruption, and improved neurological and balance function. These effects may be partly mediated by modulation of the inflammatory response.

Keywords: salsalate, neuroprotection, traumatic brain injury, cerebral edema, blood-brain barrier, NF- κ B

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (260): 30-43 (Persian).

Corresponding Author: Ali Siahposht-Khachaki - Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: ak57n@yahoo.com)

بررسی اثر سالسالات بر پیامدهای آسیب مغزی تروماتیک در موش صحرائی نر: ارزیابی عملکرد عصبی، نفوذپذیری سد خونی-مغزی، ادم مغزی و پاسخ‌های التهابی

فروزان صادقی محلی^{۲،۱}

امیر رضا امیری^۳

علی سیاه پشت خاچکی^{۴،۲}

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به نقش آسیب ثانویه در پیشرفت آسیب مغزی تروماتیک، یافتن درمان‌های دارویی مؤثر برای کاهش التهاب عصبی و بهبود عملکرد نورولوژیک از اهمیت بالایی برخوردار است. سالسالات یک داروی ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAIDs) است. این مطالعه با هدف بررسی نقش محافظت نورونی سالسالات را در فرایند ضربه مغزی منتشر در موش صحرائی انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۵۶ موش صحرائی ویستار به روش مارمارو تحت TBI قرار گرفتند و ۳۰ دقیقه بعد سالسالات با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق شد و در روز دوم و سوم تکرار شد. در زمان‌های قبل از ضربه، بلافاصله پس از به هوش آمدن پس از القا ضربه، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از ضربه مغزی Veterinary Coma Scale و تست‌های Beam Walk و Beam Balance برای ارزیابی عملکرد حرکتی و تعادل انجام شد. ۷۲ ساعت بعد، CSF از سیستم مگنا جمع آوری شده و جهت انجام آزمایش الایزا برای بررسی میزان IL-1 β ، IL-10 و نیز NF- κ B استفاده شد. میزان نفوذ پذیری سد خونی-مغزی توسط تزریق ماده رنگی ایوانز ارزیابی شد.

یافته‌ها: همه پارامترهای ادم مغزی، تخریب سد خونی مغزی و نمرات عصبی و تعادلی حرکتی از طریق تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg با سطح معنی داری ($P < 0/05$) و ۵۰ mg/kg ($P < 0/01$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش و یا بهبود یافتند. لازم به ذکر است که سالسالات در دوز ۵۰ mg/kg مؤثرتر بود ($P < 0/01$) و در کاهش فاکتورهای التهابی، دوز ۱۰۰ mg/kg مؤثرتر بود.

استنتاج: سالسالات با کاهش ادم مغزی و آسیب سد خونی-مغزی و بهبود عملکرد نورولوژیک و تعادلی، شدت آسیب ناشی از TBI را کاهش می‌دهد. این اثرات احتمالاً تا حدی از طریق تعدیل پاسخ التهابی اعمال می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: سالسالات، نوروپروتکتیو، ترومای مغزی، ادم مغزی، سد خونی-مغزی، NF- κ B

E-mail: ak57n@yahoo.com

مؤلف مسئول: علی سیاه پشت خاچکی - ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات ایمونونیتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۲/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۵/۳/۱۱ تاریخ تصویب: ۱۴۰۵/۵/۲۰

مقدمه

آسیب مغزی تروماتیک (Traumatic Brain Injury; TBI) یکی از علل اصلی مرگ و میر و ناتوانی در جهان است که بار اقتصادی قابل توجهی ایجاد می کند. با وجود پیشرفت های پژوهشی، درمان قطعی برای آن وجود ندارد و توسعه روش های درمانی جدید ضروری است (۱). TBI سالانه میلیون ها نفر را در جهان تحت تأثیر قرار داده است و از علل مهم مرگ و میر و ناتوانی محسوب می شود. با وجود پیشرفت های پژوهشی، همچنان یک چالش عمده سلامت عمومی و نیازمند درمان های نوین است (۲). آسیب مغزی ناشی از تروما یکی از علل اصلی مرگ و میر و ناتوانی مزمن در سراسر جهان است (۳). سقوط (۳۲ درصد) و تصادف جاده ای (۱۸ درصد) از مهم ترین علل ترومای مغزی شدید می باشد (۴). TBI یک اختلال نورولوژیک چند بعدی است که با آسیب اولیه ناشی از ضربه و فرآیندهای ثانویه همراه بوده و موجب تخریب نورون ها، آکسون ها، سلول های گلیال و آسیب ساختاری مغز می شود (۵، ۶). آسیب های اولیه مغز می توانند منجر به آسیب های ثانویه و تأخیری در بافت مغزی شوند. این آسیب ها شامل ایسکمی، هیپوکسی، التهاب، تخریب سد خونی-مغزی، ادم مغزی، آپوپتوز، نکروز، اختلال در متابولیسم و انرژی سلولی، تولید رادیکال های آزاد و آسیب سد خونی-نخاعی هستند (۷-۹). پس از تروما، مجموعه ای از تغییرات سلولی و مولکولی در بافت آسیب دیده ایجاد می شود که با فعال سازی فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک، آسیب ثانویه مغز را به دنبال دارد. این آسیب می تواند روزها تا سال ها ادامه یافته و در مقایسه با آسیب اولیه، نقش مهم تری در تعیین پیامدهای نامطلوب نورولوژیک داشته باشد (۱۰، ۱۱). التهاب عصبی یکی از مکانیسم های اصلی در پاتوفیزیولوژی آسیب های عصبی از جمله TBI و بیماری های نورودژنراتیو است. از آنجا که نورون ها وابستگی زیادی به عملکرد میتوکندری دارند، اختلال عملکرد میتوکندری با افزایش استرس اکسیداتیو، آپوپتوز و فعال سازی میکروگلیا، پاسخ های التهابی را تشدید کرده و موجب تخریب بافت

عصبی می شود. بنابراین، میتوکندری نقش مهمی در آغاز و پیشرفت التهاب عصبی ایفا می کند (۱۲، ۱۳). سیتوکاین ها پروتئین هایی هستند که به صورت پاراکرین و اندوکرین ترشح می شوند و به خاطر قدرت دفاعی و ترمیمی به دنبال تروما اهمیت دارند. بیان بعضی از سیتوکاین ها بعد از تروما افزایش می یابد (۱۴، ۱۵). سیتوکاین هایی مانند IL-1، IL-6، IL-10 نقش مهمی در پاسخ التهابی پس از TBI دارند. در میان آن ها، خانواده IL-1 به ویژه IL-1 β از مهم ترین سیتوکاین های پیش التهابی در ایجاد آسیب ثانویه مغز محسوب می شود. پس از تروما، سطح IL-1 β افزایش یافته و حدود ۶ ساعت بعد به اوج خود در بافت مغز می رسد (۱۶). افزایش IL-1 β ارتباط قوی با میزان جراحت مغزی دارد (۱۷). IL-10 یک سیتوکاین ضد التهابی و تنظیم کننده سیستم ایمنی است که با کاهش تولید سیتوکاین های پیش التهابی و مهار مسیرهای التهابی، موجب کاهش التهاب عصبی می شود. مطالعات پیش بالینی نشان داده اند که IL-10 دارای اثرات نوروپروتکتیو نیز می باشد (۱۸).

سالسلات، فرم غیر استیل سالیسیلات است، که متعلق به دارو های ضد التهاب غیر استروئیدی است. درمان با سالسلات موجب بهبود قابل ملاحظه در طی یک هفته پس از آسیب مغزی می شود. تحقیقات نشان می دهند که سالسلات هم از طریق مهار التهاب و هم القاء یک بیان ژن مرتبط با حفاظت عصبی و نوروزنز، بهبود آسیب تروماتیک مغز را فراهم می کند. نتایج تحقیقات نشان می دهد که ممکن است سالسلات به عنوان یک نامزد درمانی برای درمان آسیب تروماتیک مغز در انسان امیدوار کننده باشد. سالسلات، به عنوان یک عامل ضد التهابی، به طور بالینی برای چندین دهه برای درمان آرتریت روماتوئید، استئوآرتریت و شرایط روماتیسمی مرتبط استفاده شده است. اثرات ضد التهابی سالسلات و سالیسیلات، هر دو، با مهار فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز، آنزیم کلیدی در بیوسنتز پروستاگلندین های پیش التهابی، مرتبط است (۱۹). یکی از مکانیسم های احتمالی در اثرات نوروپروتکتیو NSAIDs مهار

آزادسازی گلو تامات و محافظت از میتو کندری و افزایش فعالیت نوروهای گابائریک می باشد به طوری که در سکنه های مغزی سبب کاهش حجم سکنه و بهبودی عملکرد حرکتی و شناختی گردیده است. استفاده از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAID) ممکن است بروز بیماری آلزایمر را کاهش دهد (۲۰). NSAIDs هم چنین در شرایط *in vitro* در محیط های کشت سلولی و برش های هیپوکامپ باعث کاهش مسمومیت با گلو تامات می شود و آپتوز را کاهش می دهد و در محیط *In vivo* از موش ها در برابر پارکینسون ناشی از روتنون محافظت می کند (۲۱، ۲۲). با توجه به اثرات نوروپروتکتیو، ضد التهابی، ضد آپتوزی، آنتی اکسیدانی، کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی (ER stress)، کاهش اتوفاژی و مهار سیناپس های تحریکی، و همچنین قابلیت عبور سالسلالات از سد خونی-مغزی (BBB)، این مطالعه با هدف بررسی اثر آن در مدل ضربه مغزی منتشر به روش Marmarou انجام شده است. در این پژوهش نمرات نورولوژیکی، ادم مغزی، نفوذ پذیری سد خونی مغز، تست های عملکرد حرکتی شامل Beam Balance (BB) و Beam Walk (BW) و نیز فاکتورهای التهابی در مایع مغزی نخاعی اندازه گیری شدند.

مواد و روش ها

حیوانات

در این پژوهش تجربی، ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انتخاب و وارد مطالعه شدند. حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی، تحت چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای کنترل شده 21 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش، حیوانات بدون محدودیت به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. این پژوهش طی مجوز شماره IR.MAZUMS.REC.1400.195 کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شده است.

موش ها به صورت تصادفی به ۷ گروه (هر گروه ۸ سر) تقسیم شدند. گروه Intact شامل موش های سالم بدون هیچ مداخله ای بود. گروه Sham فقط تحت بیهوشی و جراحی کاذب بدون ایجاد ضربه مغزی قرار گرفت. گروه TBI پس از بیهوشی تحت ضربه مغزی قرار گرفت. گروه TBI+Vehicle نیم ساعت پس از آسیب، Dimethyl sulfoxide (DMSO) به عنوان حلال دارو به صورت داخل صفاقی دریافت کرد. سه گروه درمانی نیز شامل دریافت کننده های سالسلالات (شرکت سیگما، آلمان)، در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg بودند که همگی ۳۰ دقیقه پس از TBI به صورت داخل صفاقی تزریق شدند.

تکنیک جراحی و ایجاد خیز مغزی

قبل از انجام عمل، بیهوشی حیوانات با استفاده از کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) همراه با ایجاد بی دردی با کوکتل میدازولام (۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیر جلدی) و مدت مدین (۰/۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) انجام گرفت (۲۳). پس از انجام تراکتوستومی و قرار دادن کانول در نای، حیوانات به منظور حفظ تهویه مناسب و جلوگیری از بروز هیپوکسی به آمبویگ متصل شدند. دمای بدن حیوانات در طول فرآیند جراحی و القای آسیب با استفاده از پد گرم کن در حدود ۳۷ درجه سانتی گراد تنظیم و پایدار نگه داشته شد. پس از ایجاد برش در پوست سر و آشکارسازی سطح جمجمه، یک صفحه فلزی از جنس استیل با قطر ۱۰ میلی متر و ضخامت ۳ میلی متر به صورت مرکزی در محل بین نقاط برگما و لامبدا قرار داده و با چسب پلی آکریل آمید تثبیت شد. سپس حیوان در وضعیت دمر بر روی یک پد فومی به ضخامت ۱۰ سانتی متر قرار گرفت و آسیب مغزی تروماتیک با اعمال ضربه ناشی از سقوط وزنه ۴۵۰ گرمی، مطابق روش Marmarou و همکاران، القا گردید. بلافاصله پس از اعمال ضربه، صفحه فلزی از

سطح مجموعه جدا شد و پس از بازیابی تنفس خودبه خودی، تهویه دستی متوقف و حیوانات به قفس های خود باز گردانده شدند (۲۶-۲۴).

روش اندازه گیری نفوذ پذیری عروق یا روش سنجش سلامت سد خونی - مغزی

برای ارزیابی یکپارچگی سد خونی-مغزی (BBB)، میزان نشت رنگ آبی ایوانز به داخل بافت مغز اندازه گیری شد. چهار ساعت پس از القای تروما، محلول ۲ درصد آبی ایوانز با دوز ۲۰ mg/kg و حجم ۱ mg/kg از طریق ورید ژوگولار تزریق شد. پس از گذشت یک ساعت از تزریق رنگ، حیوانات تحت بیهوشی عمیق قرار گرفته و قفسه سینه آنها باز شد. سپس با قرار دادن کاتتر در بطن چپ قلب، پرفیوژن با نرمال سالین به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت تا زمانی که خروج محلول شفاف از ورید ژوگولار مشاهده شد. در ادامه، مغز حیوانات خارج شده، هموژنیزه و به مدت ۲۴ ساعت در محلول حاوی استون و سولفات سدیم روی شیکر انکوبه شد. پس از جداسازی سوپرناتانت و انجام سانتریفیوژ در حضور اسید تری کلرواستیک، مقدار رنگ آبی ایوانز با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۱۰ نانومتر تعیین شد (۲۶).

روش اندازه گیری محتوای آب مغز

میزان ادم مغزی از طریق اندازه گیری محتوای آب مغز تعیین شد. در پایان روز دوم پس از TBI و پس از بیهوشی با اتر، مغز به سرعت و بدون دست کاری خارج و وزن تر آن ثبت شد. سپس نمونه ها در دمای ۷۰-۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند تا وزن خشک به دست آید. در نهایت، درصد آب بافت مغز به عنوان شاخص ادم با استفاده از فرمول شماره ۱ محاسبه شد (۲۷).

فرمول شماره ۱:

$100 \times \frac{(\text{وزن بافت مرطوب})}{(\text{وزن بافت خشک})} -$
وزن بافت مرطوب = درصد محتوای آب

ارزیابی پیامدهای نمرات نورولوژیک

پیامد نورولوژیک با استفاده از نمرات نورولوژیک که با استفاده از یک جدول (VCS) که دارای ۱۵ (۱۵-۱) نمره است ارزیابی می شود که از مجموع سه نمره اعمال حرکتی (۱-۸)، اعمال چشمی (۴-۱) و اعمال تنفسی (۳-۱) بر اساس معیار VCS، روز قبل از ضربه (Pre-TBI) و در روزهای ضربه مغزی (D0) روز اول (D1)، روز دوم (D2) و روز سوم (D3) بعد از ضربه مغزی اندازه گیری گردید (جدول شماره ۱) (۲۸).

جدول شماره ۱: نمره نورولوژی (V.C.S)

نمره	معیار	مغز
۸	عمل طبیعی	
۷	حرکتی خواب آلودگی با حرکات خودبخودی و هدفدار	
۶	خواب آلودگی، قادر نبودن به ایستادن اما با حفظ خمیدگی سخت	
۶	خواب آلودگی، عقب کشیدن در برابر نیشگون گرفتن	
۵	بلند کردن سر نسبت به محرکهای بینایی بدون خمیدگی سخت	
۴	عقب کشیدن یا پاکشیدن در برابر نیشگون گرفتن	
۳	پا زدن خودبخودی	
۲	وضعیت اکستانسیون (خودبخودی یا در برابر محرکها)	
۱	پاسخ ندادن به تحریک	
۴	عمل باز	
۳	چشم باز شدن در برابر تحریک	
۲	طبیعی بودن رفلکس پلک	
۱	پاسخ ندادن پلک به تحریک	
۳	تنفس طبیعی	
۲	آناکسی	
۱	آپنه	
۱۵	جمع	

ارزیابی عملکرد حرکتی (beam tasks)

عملکرد حرکتی حیوانات با استفاده از آزمون های Beam Balance (BB) و Beam Walk (BW) ارزیابی شد. در آزمون BB، زمان حفظ تعادل روی یک بیم چوبی (عرض ۱/۵ سانتی متر و ارتفاع ۹۰ سانتی متر) با حداکثر زمان ۶۰ ثانیه ثبت گردید. در آزمون BW، زمان عبور و مسافت طی شده تا رسیدن به محفظه هدف اندازه گیری و بر اساس مقیاس ۰ تا ۵ امتیازدهی شد (۰: عدم توانایی حرکت، ۵: عبور کامل مسیر ۱۰۰ سانتی متری). ارزیابی پایه در روز القای TBI انجام شد و آزمون ها در روزهای ۱ تا ۳ پس از آسیب، در سه تکرار ۶۰ ثانیه ای انجام و میانگین امتیازات برای تحلیل آماری استفاده شد (۲۹).

روش جمع آوری نمونه CSF/از سیستمنا مگنا جهت اندازه گیری اینترلوکین ها

پس از بیهوشی عمیق زیر استریوتکس موهای ناحیه پشت گردن تراشیده شده و حیوان در تمام طول آزمایش بیهوش نگه داشته شد. سر حیوان حدود ۴۵ درجه خم شده و با استفاده از لوله پلی اتیلن شماره ۱۰ و سرنگ همیلتون، حدود ۲۰۰ میکرولیتر CSF از سیسترنای مگنا (بین استخوان پس سری و اطلس) جمع آوری شد (۲۹، ۳۰). نمونه شفاف به دست آمده به اپندورف منتقل شد و بلافاصله در نیتروژن مایع فریز گردید (۳۰، ۳۱). برای سنجش اینترلوکین‌های التهابی IL-1 β از کیت الایزای ایرانی (شرکت کارمانیاپارس ژن، ایران، Cat.No. KPG-RIL-1B) و NF-kB از کیت الایزای استاندارد (Bioscourc, Canada; Cat. No. MBS287521) و ضد التهابی IL-10 از کیت الایزای (شرکت کارمانیاپارس ژن، ایران، Cat.No. KPG-RIL-10) استفاده شد.

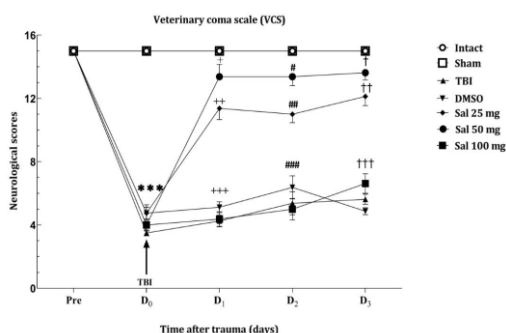
تجزیه و تحلیل آماری

جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروه‌های مورد
آزمون در صورت رعایت مفروضات ابتدا برای بررسی
اختلاف بین گروه‌ها از آزمون repeated-measure
ANOVA استفاده کرده و سپس آزمون ANOVA یک
طرفه در صورت نیاز از post test نیومن کولز برای
تحلیل داده‌های مربوط به محتوای آب مغزی و
نفوذپذیری سد خونی مغز و فاکتورهای التهابی و دو
طرفه (Tukey post test) برای بررسی داده در روزهای
مختلف نظیر نمره های نورولوژیکی، beam walk و
beam balance استفاده شده و تحلیل‌های آماری با
استفاده از نرم‌افزار Prism8 GraphPad انجام گردید.
در تمام موارد سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ($P < 0.05$) در نظر
گرفته شده است.

یافته‌ها

اثر سالسلالات بر نمرات نورولوژیک پس از TBI

نتایج آزمون‌های ANOVA repeated-measure، Two-way ANOVA و Tukey نشان داد ترومای مغزی در روز اول پس از آسیب باعث کاهش معنی‌دار نمرات نورولوژیک در گروه‌های TBI، DMSO و سالسالات شد ($P < 0.001$). تجویز داخل صفاقی سالسالات با دوزهای ۲۵ ng/kg و ۵۰ mg/kg موجب بهبود نمرات نورولوژیک و نزدیک شدن آن به گروه‌های Intact و Sham شد، اما دوز ۱۰۰ mg/kg اثری نداشت ($P > 0.05$). بیش‌ترین افزایش VCS در دوز ۵۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر روی نمرات نورولوژیکی بعد از ترومای شدید مغزی (Traumatic brain injury (TBI) در موش صحرایی نر، داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است (n=8)

شام و Intact دار با معنی

گروه TBI و Dimethylsulfoxide (DMSO) $P < 0.05$ ++ $P < 0.01$ +++ $P < 0.001$ اختلاف معنی دار با

گروه TBI و DMSO $P < 0.05$ # $P < 0.01$ ## $P < 0.001$ اختلاف معنی دار با

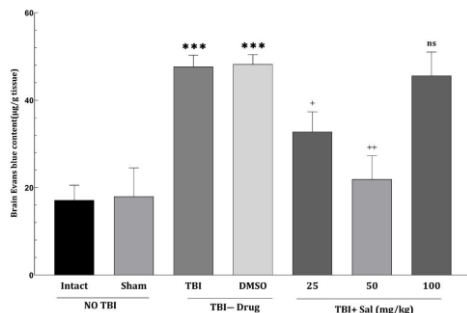
گروه TBI و DMSO $P < 0.05$ † $P < 0.01$ †† $P < 0.001$ ††† اختلاف معنی دار با

گروه TBI و DMSO

اثر سال‌سالات بر ادم مغزی پس از TBI

نتایج آزمون‌های Repeated-measure ANOVA و One-way ANOVA و نیومن-کولز نشان داد ضربه مغزی باعث افزایش محتوای آب مغز می‌شود. تزریق داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg و

۵۰ mg/kg طی روزهای ۱ تا ۳ پس از آسیب، این زمان را کاهش داده و عملکرد حرکتی را به گروه‌های Intact و Sham نزدیک کرد، به‌طوری‌که با گذشت زمان این تفاوت کاهش یافت ($P < 0.01$)، اما دوز ۱۰۰ mg/kg اثر قابل توجهی نداشت و تفاوتی با گروه‌های TBI و DMSO مشاهده نشد ($P > 0.05$). (نمودار شماره ۴).



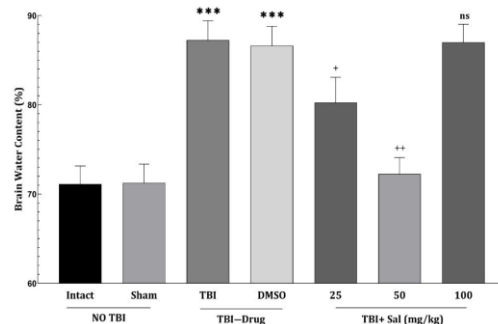
نمودار شماره ۳: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر میزان محتوای رنگ آبی ایوانز بعد از ترومای شدید مغزی (TBI) Traumatic brain injury در موش صحرایی نر، داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است ($n = 8$).

***: $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه‌های Intact و Sham
++: $P < 0.01$ و +: $P < 0.05$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و Dimethyl sulfoxide (DMSO)

اثر سالسالات بر عملکرد تعادلی BB پس از TBI

نتایج Two-way ANOVA و Tukey نشان داد ضربه مغزی باعث کاهش معنی دار نمرات تعادلی-حرکتی (VMS) در روز D0 در گروه‌های TBI و DMSO شد ($P < 0.001$). در روز D1، تجویز سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg و به‌ویژه ۵۰ mg/kg موجب بهبود معنی دار این نمرات و نزدیک شدن آن‌ها به گروه‌های Intact و Sham شد، به‌طوری‌که اختلاف با این گروه‌ها در طول زمان کاهش یافت ($P < 0.05$). همچنین در همان روز D1، تفاوت معنی داری بین گروه‌های درمانی و گروه‌های TBI و DMSO مشاهده شد که نشان دهنده بهبود عملکرد حرکتی بود ($P < 0.01$). در مقابل، دوز ۱۰۰ mg/kg اثر معنی داری نشان نداد ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۵).

۵۰ mg/kg این افزایش را به‌طور معنی داری کاهش داد که دوز ۵۰ mg/kg مؤثرتر بود ($P < 0.01$)، اما دوز ۱۰۰ mg/kg تأثیر معنی داری نداشت ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر میزان محتوای آب مغز بعد از ترومای شدید مغزی (TBI) Traumatic brain injury در موش صحرایی نر، داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است ($n = 8$).

***: $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه‌های Intact و Sham
++: $P < 0.01$ و +: $P < 0.05$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و Dimethyl sulfoxide (DMSO)

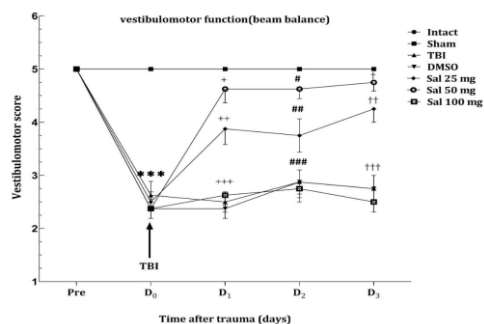
اثر سالسالات بر نفوذ پذیری سد خونی مغز پس از TBI

نتایج آزمون‌های Repeated-measure ANOVA و One-way ANOVA و نیومن-کولز نشان داد ضربه مغزی باعث افزایش محتوای رنگ آبی ایوانز و افزایش نفوذپذیری سد خونی-مغزی می‌شود ($P < 0.001$). تجویز سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg این شاخص را به‌طور معنی داری کاهش داد که دوز ۵۰ mg/kg مؤثرتر بود ($P < 0.01$) اما دوز ۱۰۰ mg/kg تأثیر معنی داری نداشت ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۳).

اثر سالسالات بر عملکرد تعادلی BW پس از TBI

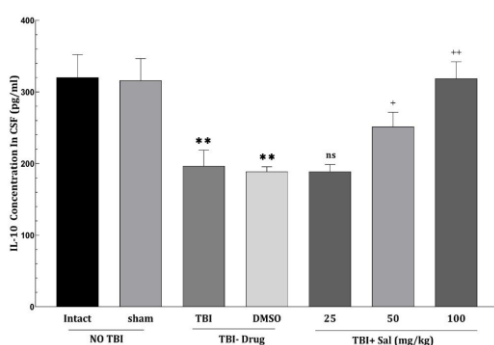
نتایج Two-way ANOVA و تست Tukey نشان داد ضربه مغزی باعث افزایش معنی دار زمان عبور از Beam (حدود ۱۵ ثانیه در برابر ۵ ثانیه در حالت نرمال) می‌شود ($P < 0.001$). تجویز سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg و

را به طور معنی دار کاهش داد ($P < 0.01$)، اما در دوز 100mg/kg تغییر معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۷).

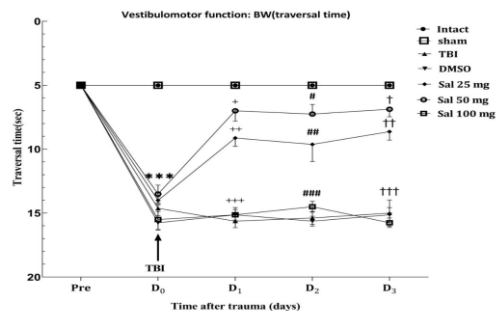


نمودار شماره ۵: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر روی نمرات شاخص تعادلی- حرکتی beam balance (بر مدت زمان باقیماندن حیوان روی میله) بعد از ترومای شدید مغزی (TBI) Traumatic brain injury در موش صحرایی نر، داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است ($n=8$).

*** $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه Intact و sham
+ $P < 0.05$ ، ++ $P < 0.01$ ، +++ $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و Dimethylsulfoxide (DMSO)
$P < 0.05$ ، ## $P < 0.01$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و DMSO
† $P < 0.05$ ، †† $P < 0.01$ ، ††† $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و DMSO



نمودار شماره ۶: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر میزان Interleukin-10 (IL-10) در مایع Cerebrospinal fluid (CSF) بعد از ترومای مغزی (TBI) Traumatic brain injury در موش صحرایی نر، داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است ($n=8$).



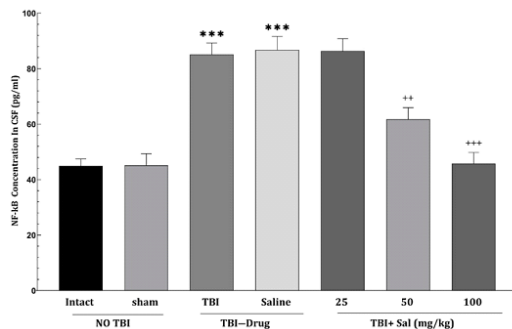
نمودار شماره ۴: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر روی نمرات شاخص تعادلی- حرکتی beam walk بعد از ترومای شدید مغزی (TBI) Traumatic brain injury در موش صحرایی نر، داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است ($n=8$).

*** $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه Intact و sham
+ $P < 0.05$ ، ++ $P < 0.01$ ، +++ $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و Dimethylsulfoxide (DMSO)
$P < 0.05$ ، ## $P < 0.01$ ، ### $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و DMSO
† $P < 0.05$ ، †† $P < 0.01$ ، ††† $P < 0.001$ ، اختلاف معنی دار با گروه TBI و DMSO

اثر سالسالات بر میزان بر IL-10 مایع CSF پس از TBI
نتایج One-way ANOVA و آزمون نیومن-کولز نشان داد ترومای مغزی باعث کاهش معنی دار IL-10 در CSF نسبت به گروه های Sham و Intact شد ($P < 0.001$). تجویز سالسالات در دوزهای ۵۰ mg/kg ($P < 0.001$) و ۱۰۰ mg/kg باعث افزایش معنی دار IL-10 و نزدیک شدن آن به گروه های سالم شد، به طوری که اختلاف با گروه های TBI و DMSO کاملاً معنی دار بود ($P < 0.001$)، اما دوز ۲۵ mg/kg اثر قابل توجهی نشان نداد ($P > 0.05$) (نمودار شماره ۶).

اثر سالسالات بر میزان بر IL-1β مایع CSF پس از TBI
نتایج One-way ANOVA و آزمون نیومن-کولز نشان داد ضربه مغزی باعث افزایش معنی دار IL-1β در CSF می شود ($P < 0.001$). تجویز سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg ($P < 0.001$) و ۵۰ mg/kg این سطح

نسبت به گروه کنترل به طور معنی دار برطرف کند که البته در دوز ۵۰ mg/kg سالسالات این تغییرات آشکارتر بوده است. همچنین بعد از تجویز سالسالات میزان اینترلوکین ضد التهابی IL-10 افزایش معنی دار پیدا کرد و اینترلوکین التهاب زا IL-1 β و نیز NF- κ B در مایع CSF کاهش معنی داری یافته است.

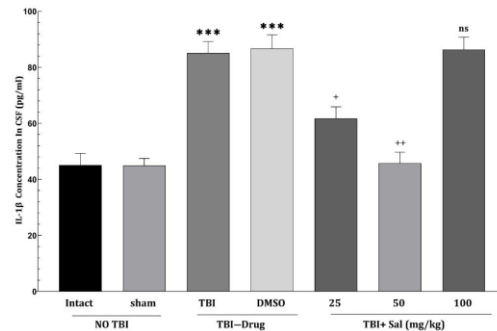


نمودار شماره ۸: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر میزان (NF- κ B) Cerebrospinal (CSF) Nuclear Factor kappa B موجود در مایع (CSF) Traumatic brain injury (TBI) بعد از ترومای شدید مغزی (TBI) در موش صحرایی نر، داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است (n=۸).

***: P < 0.001، اختلاف معنی دار با گروه Intact و sham
++: P < 0.01، +++: P < 0.001، اختلاف معنی دار با گروه TBI و Dimethylsulfoxide (DMSO)

بررسی ها نشان داد سالسالات در هر دو دوز پایین تر باعث کاهش معنی دار ادم مغزی شدند، با این حال اثر محافظتی در دوز ۵۰ mg/kg بارزتر بود. در مقابل، دوز ۱۰۰ mg/kg تفاوت معنی داری نشان نداد، که نشان می دهد این دوز تأثیر قابل توجهی بر کاهش ادم مغزی ندارد. سد خونی-مغزی (BBB) با تنظیم تبادل مواد بین خون و سیستم عصبی مرکزی، نقش مهمی در حفظ هموستاز CNS دارد. اختلال در این سد در بسیاری از بیماری ها و آسیب های عصبی مانند تروما، سکته مغزی، ادم و فرآیندهای التهابی مشاهده می شود. تخریب BBB موجب ورود آب و پروتئین های پلاسما به بافت مغز شده و در نتیجه ادم وازوژنیک و افزایش حجم مغز ایجاد

***: P < 0.01، اختلاف معنی دار گروه های DMSO، TBI با گروه های Intact و Sham
+: P < 0.05، ++: P < 0.01، به ترتیب تفاوت معنی دار گروه SAL 50 و 100 با گروه های TBI و Dimethyl sulfoxide (DMSO)



نمودار شماره ۷: اثر تجویز داخل صفاقی سالسالات در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به کیلوگرم وزن بدن بر میزان (IL-1 β) Cerebrospinal fluid (CSF) Interleukin-1 beta موجود در مایع (CSF) بعد از ترومای مغزی (TBI) در موش صحرایی نر، داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است (n=۸).

***: P < 0.001، اختلاف معنی دار با گروه Intact و sham
+: P < 0.05، ++: P < 0.01، اختلاف معنی دار با گروه TBI و Dimethylsulfoxide (DMSO)

اثر سالسالات بر میزان NF- κ B مایع CSF پس از TBI
نتایج One-way ANOVA و آزمون نیومن-کولز نشان داد ضربه مغزی باعث افزایش معنی دار NF- κ B در CSF می شود (P < ۰/۰۰۱). تجویز سالسالات در دوزهای ۵۰ mg/kg (P < ۰/۰۰۱) و ۱۰۰ mg/kg این فاکتور التهابی را به طور معنی دار کاهش داد (P < ۰/۰۰۱)، اما دوز ۲۵ mg/kg اثر معنی داری نداشت (P > ۰/۰۵) (نمودار شماره ۸).

بحث

یافته های مطالعه حاضر نشان داد که ضربه مغزی ناشی از تروما سبب ادم مغزی و تخریب سد خونی مغزی و تغییرات در نمرات نورولوژیکی و تعادلی حیوان می شود. ولیکن تجویز سالسالات در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg توانست این اختلالات را

می‌کند. این وضعیت می‌تواند به آسیب میلین، فعال شدن بیش از حد آستروسیت‌ها و اختلال عملکرد نورونی منجر شود. بنابراین، توسعه مداخلات دارویی برای حفظ یا ترمیم سد خونی-مغزی و کاهش پیامدهای نورولوژیک آن ضروری است (۳۲). سلول‌های گلیال نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز دارند و علاوه بر ایجاد حمایت ساختاری و سد محافظتی برای نورون‌ها، به عنوان واحدهای عملکردی فعال نیز شناخته می‌شوند. اختلال در عملکرد سلول‌های گلیال می‌تواند منجر به نورودژنراسیون، اختلالات عصبی و شناختی و کاهش حافظه شود (۳۳). در این مطالعه، برای بررسی نفوذپذیری سد خونی-مغزی مشخص شد که ضربه مغزی موجب افزایش میزان رنگ آبی ایوانز در بافت خارج عروقی مغز می‌شود که نشان دهنده افزایش نفوذپذیری BBB است. سالسلات در هر دو دوز پایین‌تر باعث کاهش معنی‌دار این شاخص شد، در مقابل، دوز 100 mg/kg اثر قابل توجهی نشان نداد. برای ارزیابی عملکرد مغزی پس از ضربه، پارامترهای Beam Walk (زمان عبور) و Beam Balance (عملکرد وستیولوموتور) در روزهای پس از آسیب بررسی شدند. سالسلات در هر دو دوز پایین‌تر طی روزهای پس از آسیب به تدریج به عملکرد گروه‌های intact و sham نزدیک شدند. با این حال، میزان بهبود عملکرد در دوز 50 mg/kg و واضح‌تر و مؤثرتر از سایر دوزها بود. به علاوه گروه‌های دریافت کننده سالسلات در دوزهای پایین‌تر در تمام زمان‌ها بالاترین نمرات نورولوژیک را داشته‌اند. در روز سوم، نمرات این گروه‌ها به گروه‌های intact و sham نزدیک‌تر بود و همچنین روند بهبود VCS در این گروه‌ها سریع‌تر از سایر گروه‌ها مشاهده شد. مطالعه‌ای توسط Sang-Won Min و همکاران نشان داده شده است که تجویز خوراکی سالسلات در دوز 25 mg/kg می‌تواند موجب بهبود آلزایمر و دمانس شود (۳۴). این اثر از طریق مهار استیل‌اسیون پروتئین تاو اعمال شده و به بهبود یادگیری و حافظه در تست Morris Water Maze (MWM) منجر می‌گردد. از آنجا

که استیل‌اسیون تاو در هیپوکمپ در پاتوژنز آلزایمر نقش دارد، سالسلات با اثرات نوروپروتکتیو خود می‌تواند در بهبود عملکرد شناختی مؤثر باشد؛ موضوعی که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

در مطالعه حاضر در بررسی میزان IL-10 مایع CSF، پس از القای ترومای مغزی نتیجه اثر سالسلات در دوزهای 50 mg/kg و 100 mg/kg اختلاف حداقلی با گروه‌های intact و sham نشان داد، در حالی که دوز 25 mg/kg اثر معنی‌داری نشان نداد. تجویز سالسلات در دوزهای پایین‌تر باعث کاهش معنی‌دار IL-1 β پس از TBI شد، اما در دوز 100 mg/kg این اثر مشاهده نگردید. هم‌چنین، درمان با سالسلات در دوزهای 50 mg/kg و 100 mg/kg باعث کاهش معنی‌دار NF- κ B شد، در حالی که دوز 25 mg/kg تغییر قابل توجهی ایجاد نکرد. با توجه به نقش NF- κ B به عنوان تنظیم کننده اصلی پاسخ‌های ایمنی و آبشار التهابی، این یافته‌ها نشان دهنده اثر ضد التهابی وابسته به دوز سالسلات هستند (۳۵). یک روش منطقی برای محدود کردن التهاب وابسته TBI، مهار فعال‌سازی NF- κ B پس از آسیب است. مطالعه‌ای توسط Mouna Lagraoui و همکاران نشان داد که تجویز داخل صفاقی سالسلات با دوز 50 mg/kg پس از القای جراحی مغزی به روش CCI در موش، موجب کاهش گسترده بیان ژن‌های التهابی القاشده توسط TBI می‌شود (۳۶). اگر چه کاهش NF- κ B و افزایش IL-10 نشان دهنده تعدیل پاسخ التهابی است، اما بهبود عملکرد نورولوژیک و کاهش ادم مغزی پس از TBI تحت تأثیر عوامل متعددی از جمله آسیب اولیه بافتی، استرس اکسیداتیو، اختلال سد خونی-مغزی، آپوپتوز و آسیب ساختاری غیر قابل برگشت قرار دارد. بنابراین، تغییر در یک مسیر التهابی به تنهایی ممکن است برای ایجاد بهبود قابل اندازه‌گیری در آزمون‌های رفتاری و ادم مغزی کافی نباشد (۳۷).

تحقیقات نشان داده که سالسلات همچنین بیان ژن‌های مرتبط با نوروپروتکشن و نوروژنز، از جمله

نوروپیتیدها، اکسی توسین و هورمون آزاد کننده تیروتروپین را افزایش داد. علاوه بر این، درمان با سالسلات به بهبود معنی دار عملکرد حرکتی پس از آسیب منجر شد. این یافته‌های پیش بالینی نشان می‌دهد که سالسلات می‌تواند به عنوان یک رویکرد درمانی چند مکانیسمی برای بهبود پیامدهای عملکردی در TBI مطرح باشد (۱۹). Lagraoui و همکاران اثرات سالسلات را در یک مدل موشی آسیب مغزی تروماتیک (TBI) بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که تجویز سالسلات پس از ایجاد آسیب مغزی تروماتیک، موجب کاهش قابل توجه التهاب عصبی، بهبود عملکردهای نورولوژیکی و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با محافظت عصبی و نوروژن‌زایی (neurogenesis) شد. مکانیسم احتمالی این اثرات می‌تواند از طریق کاهش استرس شبکه آندوپلاسمی (ER stress) توسط سالسلات باشد که در نتیجه آن، فعالیت پروتئین p300 محدود شده و مسیرهای مرتبط با آسیب عصبی کاهش می‌یابد (۳۶).

در نتایج مطالعه حاضر نشان داده شد که دوز ۱۰۰ mg/kg سالسلات اثر معنی‌داری بر شاخص‌های نورولوژیکی پس از ضربه مغزی نداشت، هر چند توانست باعث کاهش NF- κ B و IL-1 β و افزایش IL-10 به عنوان یک سایتوکین ضد التهابی شود. عدم همخوانی تغییرات این سایتوکین‌ها با شاخص‌های عملکردی مغزی در این دوز ممکن است به دلیل عدم تأثیر آن بر IL-1 β یا سایر مسیرهای التهابی در گیر در TBI باشد که در این مطالعه بررسی نشده‌اند. در مقابل، دوز ۵۰ mg/kg که بیش‌ترین اثر بهبود عملکرد نورولوژیکی را نشان داد، احتمالاً از طریق یک اثر چند هدفه عمل کرده است، که ممکن است شامل افزایش IL-10، کاهش هم‌زمان IL-1 β و NF- κ B، و احتمالاً مهار سایر مسیرهای التهابی مرتبط با آسیب مغزی، باشد.

محدودیت‌های این مطالعه شامل عدم بررسی مسیرهای مولکولی عمیق‌تر مرتبط با اثر نورو محافظتی سالسلات، عدم انجام مطالعات فارماکوکینتیک و ارزیابی دقیق رابطه دوز- پاسخ، استفاده از مدل حیوانی و محدودیت در تعمیم نتایج به انسان، عدم بررسی اثرات طولانی مدت درمان و عدم ارزیابی برخی شاخص‌های مهم آسیب ثانویه مانند آپوپتوز و استرس اکسیداتیو بود.

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد تجویز سالسلات در دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg موجب بهبود شاخص‌های نورولوژیکی پس از ضربه مغزی، بهبود عملکرد حرکتی، تقویت سد خونی- مغزی، کاهش ادم مغزی در مدل حیوانی TBI شد در حالی که دوز ۱۰۰ mg/kg تغییرات معنی‌داری در بهبودی این شاخص‌ها ایجاد نکرد. از طرفی دیگر دوز ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ mg/kg نتوانستند سبب کاهش عوامل التهابی و افزایش فاکتورهای ضد التهابی شوند در حالی که دوز ۲۵ mg/kg اثر بخشی در این خصوص نشان نداد. سالسلات به دلیل داشتن اثرات چندگانه، از جمله اثرات ضد التهابی و محافظت کننده عصبی، می‌تواند به عنوان یک گزینه امیدوار کننده برای مطالعات بیش‌تر در درمان TBI مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود وظیفه می‌دانند که از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران جهت تأمین بخش مالی این پروژه تشکر و قدردانی نمایند. این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه امیررضا امیری دانشجوی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد که به عنوان طرح تحقیقاتی با اخذ کد اخلاق در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد.

References

- 1- Fu TS, Jing R, McFaul SR, Cusimano MD. Health & economic burden of traumatic brain injury in the emergency department. *Can J Neurol Sci* 2016;43(2):238-247 PMID: 26842131.
- 2- Maas AI, Menon DK, Adelson PD, Andelic N, Bell MJ, Belli A, et al. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research. *Lancet Neurol* 2017;16(12):987-1048 PMID: 29122524.
- 3- kie S. Traumatic brain injury in the war zone. *N Engl J Med* 2005;352(20):2043-2047 PMID: 15901856.
- 4- Young LA, Rule GT, Bocchieri RT, Burns JM. Biophysical mechanisms of traumatic brain injuries. *Semin Neurol* 2015;35(1):5-11 PMID: 25714862.
- 5- Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004;24(2): 133-150 PMID: 14747740.
- 6- Saatman KE, Creed J, Raghupathi R. Calpain as a therapeutic target in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics* 2010;7(1):31-42 PMID: 20129495.
- 7- Aarabi B, Simard JM. Traumatic brain injury. *Curr Opin Crit Care* 2009;15(6):548-553 PMID: 19741521.
- 8- Maas AI, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol* 2008;7(8):728-741 PMID: 18635021.
- 9- Povlishock JT. The classification of traumatic brain injury (TBI) for targeted therapies. *J Neurotrauma* 2008;25(7):717-718 PMID: 18627251.
- 10- Schouten JW. Neuroprotection in traumatic brain injury: a complex struggle against the biology of nature. *Curr Opin Crit Care* 2007;13(2):134-142 PMID: 17327733.
- 11- Sharma D, Vavilala MS. Perioperative management of adult traumatic brain injury. *Anesthesiol Clin* 2012;30(2):333-346 PMID: 22901613.
- 12- Joshi AU, Mochly-Rosen D. Mortal engines: Mitochondrial bioenergetics and dysfunction in neurodegenerative diseases. *Pharmacol Res* 2018;138:2-15 PMID: 30144530.
- 13- Di Filippo M, Chiasserini D, Tozzi A, Picconi B, Calabresi P. Mitochondria and the link between neuroinflammation and neurodegeneration. *J Alzheimer Dis* 2010;20(s2):S369-S379 PMID: 20463396.
- 14- Schmidt OI, Heyde CE, Ertel W, Stahel PF. Closed head injury—an inflammatory disease? *Brain Res Brain Res Rev* 2005;48(2):388-399 PMID: 15850678.
- 15- Lenz A, Franklin GA, Cheadle WG. Systemic inflammation after trauma. *Injury* 2007;38(12):1336-1345 PMID: 18048040.
- 16- Ciallella JR, Ikonovic MD, Paljug WR, Wilbur YI, Dixon CE, Kochanek PM, et al. Changes in expression of amyloid precursor protein and interleukin-1 β after experimental traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma* 2002;19(12):1555-1567 PMID: 12542857.
- 17- Campbell SJ, Deacon RM, Jiang Y, Ferrari C, Pitossi FJ, Anthony DC. Overexpression of IL-1 β by adenoviral-mediated gene transfer in the rat brain causes a prolonged hepatic chemokine response, axonal injury and the suppression of spontaneous

- behaviour. *Neurobiol Dis* 2007;27(2):151-163 PMID: 17580116.
- 18- Garcia JM, Stillings SA, Leclerc JL, Phillips H, Edwards NJ, Robicsek SA, et al. Role of interleukin-10 in Acute Brain injuries. *Front Neurol* 2017;8:244 PMID: 28659854.
- 19- Lagraoui M, Sukumar G, Latoche JR, Maynard SK, Dalgard CL, Schaefer BC. Salsalate treatment following traumatic brain injury reduces inflammation and promotes a neuroprotective and neurogenic transcriptional response with concomitant functional recovery. *Brain Behav Immun* 2017;61:96-109 PMID: 27939247.
- 20- Wang J, Tan L, Wang HF, Tan C-C, Meng XF, Wang C, et al. Anti-inflammatory drugs and risk of Alzheimer's disease: an updated systematic review and meta-analysis. *J Alzheimer Dis* 2015;44(2):385-396 PMID: 25227314.
- 21- Grilli M, Pizzi M, Memo M, Spano P. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF- κ B activation. *Science* 1996;274(5291):1383-1385 PMID: 8910280.
- 22- Madathil SK, Karuppagounder SS, Mohanakumar KP. Sodium salicylate protects against rotenone-induced Parkinsonism in rats. *Synapse* 2013;67(8):502-514 PMID: 23447126.
- 23- Chakraborty N, Hammamieh R, Gautam A, Miller S-A, Condlin ML, Jett M, et al. TBI weight-drop model with variable impact heights differentially perturbs hippocampus-cerebellum specific transcriptomic profile. *Exp Neurol* 2021;335:113516. PMID: 33172833.
- 24- Khaksari M, Soltani Z, Shahrokhi N, Moshtaghi G, Asadikaram G. The role of estrogen and progesterone, administered alone and in combination, in modulating cytokine concentration following traumatic brain injury. *Can J Physiol Pharmacol* 2011;89(1):31-40 PMID: 21186375.
- 25- Asl SZ, Khaksari M, Khachki AS, Shahrokhi N, Nourizade S. Contribution of estrogen receptors alpha and beta in the effects of estradiol in the brain. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;119(2):353-361.
- 26- Khachaki A, Haddad M, Shahrokhi N, Sepehri G. Effects of different phases of estrous cycle on brain edema and neurological outcomes after severe traumatic brain injury in female rats. *Koomesh* 2011;13(1): 62-72.
- 27- Khaksari M, Maghool F, Asadikaram G, Hajializadeh Z. Effects of sex steroid hormones on neuromedin S and neuromedin U2 receptor expression following experimental traumatic brain injury. *Iran J Basic Med Sci* 2016 ;19(10):1080–1089 PMID: 27872704.
- 28- Soltani Z, Khaksari M, Jafari E, Iranpour M, Shahrokhi N. Is genistein neuroprotective in traumatic brain injury? *Physiol Behav* 2015;152 (Pt A):26-31 PMID: 26367454.
- 29- Monaco CM, Mattiola VV, Folweiler KA, Tay JK, Yelleswarapu NK, Curatolo LM, et al. Environmental enrichment promotes robust functional and histological benefits in female rats after controlled cortical impact injury. *Exp Neurol* 2013;247:410-408 PMID: 23333563.
- 30- Nirogi R, Kandikere V, Mudigonda K, Bhyrapuneni G, Muddana N, Saralaya R, et al. A simple and rapid method to collect the cerebrospinal fluid of rats and its application for the assessment of drug

- penetration into the central nervous system. *J Neurosci Methods* 2009;178(1):116-119 PMID: 19109998.
- 31- Pegg CC, He C, Stroink AR, Kattner KA, Wang CX. Technique for collection of cerebrospinal fluid from the cisterna magna in rat. *J Neurosci Methods* 2010;187(1):8-12 PMID: 20005255.
- 32- Wang S, He H, Chen L, Zhang W, Zhang X, Chen J. Protective effects of salidroside in the MPTP/MPP⁺-induced model of Parkinson's disease through ROS-NO-related mitochondrion pathway. *Mol Neurobiol* 2015;51(2):718-728 PMID: 24913834.
- 33- Fakhri S, Yosifova Aneva I, Farzaei MH, Sobarzo-Sánchez E. The neuroprotective effects of astaxanthin: Therapeutic targets and clinical perspective. *Molecules* 2019;24(14):2640 PMID: 31330843.
- 34- Min SW, Chen X, Tracy TE, Li Y, Zhou Y, Wang C, et al. Critical role of acetylation in tau-mediated neurodegeneration and cognitive deficits. *Nat Med* 2015;21(10):1154-1162 PMID: 26390242.
- 35- Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF- κ B transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol* 2009;27:693-733 PMID: 19302050.
- 36- Lagraoui M, Sukumar G, Latoche JR, Maynard SK, Dalgard CL, Schaefer BC. Salsalate treatment following traumatic brain injury reduces inflammation and promotes a neuroprotective and neurogenic transcriptional response with concomitant functional recovery. *Brain Behav Immun* 2017;61:96-109 PMID: 27939247.
- 37- Thapa K, Khan H, Singh TG, Kaur A. Traumatic brain injury: mechanistic insight on pathophysiology and potential therapeutic targets. *J Mol Neurosci* 2021;71(9):1725-1742 PMID: 33956297.