

Neuroprotective Effects of Allicin on Neurological Scores, Blood Brain Barrier Permeability and Brain Edema Following Severe Traumatic Brain Injury in Male Rats: A Behavioral, Biochemical and Histological Study

Seyed Reza Seyedin¹,
Moslem Mohammadi²,
Ali Siahposht-Khachaki³

¹ Medical Student, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Immunogenetics Research Center, Department of Physiology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 27, 2022 ; Accepted November 5, 2022)

Abstract

Background and purpose: Allicin has a wide range of pharmacological functions, all of which can be demonstrated in anti-inflammatory, antioxidant, antifungal and anti-tumor activities. In this research, we investigated the neuroprotective role of allicin in the process of diffuse traumatic brain injury and its effect on interleukin levels and histological changes in rats.

Materials and methods: In this experimental study, Wistar rats (n=56) underwent diffuse controlled brain injury by Marmarou method, and 30 minutes later, the drug was injected intraperitoneally at different doses. Veterinary Coma Scale was used and Beam Walk and Beam Balance movement and balance tests were taken at pre-traumatic times, immediately after recovery from the trauma, and 24, 48, and 72 hours after the trauma.

Results: Findings showed that allicin at 25 mg/kg and 50 mg/kg can reduce these differences compared to the control group (Sham and Intact) ($P < 0.001$). Allicin was found to be more effective at 25 mg/kg ($P < 0.0001$).

Conclusion: Allicin showed neuroprotective effects in the brain and can affect the consequences of trauma, reduce cerebral edema, accelerate improvement of blood-brain barrier, and improve neurological scores and the function of vestibular system.

Keywords: allicin, neuroprotective, brain trauma, brain edema, blood-brain barrier, interleukins

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 32 (216): 61-75 (Persian).

Corresponding Author: Ali Siahposht-Khachaki - Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: a.siahposht@mazums.ac.ir)

بررسی اثرات آلیسین روی نفوذپذیری سد خونی مغزی، نمره نورولوژیکی و ادم مغزی به دنبال القای ترومای مغزی به روش مارمارو در موش صحرایی نر: یک مطالعه رفتاری، بیوشیمیایی و هیستولوژیکی

سید رضا سیدین¹مسلم محمدی²علی سیاه پشت خاچکی³

چکیده

سابقه و هدف: آلیسین دارای طیف گسترده‌ای از عملکردهای دارویی است که همه آنها را می‌توان در فعالیت‌های ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدتومور نشان داد، لذا در این مطالعه نقش محافظت نورونی آلیسین در فرایند ضربه مغزی منتشر در موش صحرایی و همچنین تاثیر آن بر روی میزان اینترلوکین‌ها و تغییرات هیستولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مداخله ای تجربی، 56 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار پس از القای بیهوشی و کانول گذاری در نای، تحت ضربه مغزی کنترل شده منتشر به روش مار مارو قرار گرفتند و 30 دقیقه بعد به رت‌ها داروی آلیسین با دوزهای مختلف به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در زمان‌های قبل از ضربه، بلافاصله پس از به هوش آمدن پس از القای ضربه، 24، 48 و 72 ساعت بعد از ضربه Veterinary Coma Scale و تست‌های حرکتی و تعادلی Beam Walk و Beam Balance از رت‌ها گرفته و ثبت شد.

یافته‌ها: آلیسین در دوزهای 25 و 50 mg/kg می‌تواند اختلاف موارد ذکرشده را نسبت به گروه کنترل (Sham و Intact) کم‌تر کند ($P < 0/001$). لازم به ذکر است آلیسین در دوز 25 mg/kg موثرتر بوده است ($P < 0/0001$). **استنتاج:** براساس این مطالعه می‌توان دریافت که آلیسین دارای اثرات محافظت نورونی در مغز بود و توانسته بر روی پیامدهای ناشی از ضربه مغزی اثر بگذارد و همچنین می‌تواند موجب کاهش ادم مغزی، تسریع در بهبود وضعیت سد خونی - مغزی و نمرات نورولوژیکی و تعادلی شود.

واژه های کلیدی: آلیسین، نوروپروتکتیو، ترومای مغزی، ادم مغزی، سد خونی - مغزی، اینترلوکین‌ها

مقدمه

جهانی و چالش سلامت عمومی در بین تمام سنین در همه کشورها، بدون توجه به سطح درآمد بیمار، می‌باشد (1). TBI یک اختلال نورولوژیکی چند بعدی است که به وسیله جراحات‌های اولیه و ثانویه ایجاد می‌گردد.

علی‌رغم پیشرفت‌های اخیر در تحقیقات تروما و تلاش‌های مداوم مطالعات چند رشته‌ای مشترک برای مقابله با این مشکل و بهبودی بیماران، ضربه مغزی یا TBI (Traumatic brain injury) همچنان یک بار سلامت

E-mail: a.siahposht@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: علی سیاه پشت خاچکی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات ایمونونیتیک

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

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

3. دانشیار، مرکز تحقیقات ایمونونیتیک، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1401/2/21 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/3/8 تاریخ تصویب: 1401/9/21

در تمام موارد ضربه مغزی به دنبال ضربه فیزیکی، تخریب سریع و غیر قابل برگشت در نورون، آکسون و سلول‌های گلیال حادث می‌شود و پارگی عروق خونی یا شکستگی جمجمه، پارگی ماده سفید و خاکستری و خونریزی داخل جمجمه‌ای ایجاد می‌گردد (3,2).

راحت‌های اولیه خود منجر به جراحات‌های ثانویه در بافت مغز می‌گردند که با تاخیر همراه می‌باشند. این جراحات‌های ثانویه شامل سکنه مغزی، هیپوکسی، التهاب، تخریب سد خونی - مغزی، ادم مغزی، آپوپتوزیس، نکروز، تغییر در متابولیسم و انرژی سلول، تولید رادیکال‌های آزاد و تخریب سد خونی - نخاعی می‌باشد (4-6). میزان تخریب ناشی از جراحات ثانویه به شدت جراحات اولیه و مکان ایجاد جراحات وابسته است و جراحات ثانویه مسئول تکامل اختلالات نورولوژیکی زیادی است که بعد از TBI مشاهده می‌گردد (8,7). هرچند جراحات اولیه یک فاکتور تعیین کننده در زمینه پیامدهای نورولوژیکی ناشی از تروما در بیماران است، ولی جراحات ثانویه ایجاد شده به وسیله اختلالات فیزیولوژیکی پیش آگهی بدی را در این بیماران به همراه دارد (9,10). سیر که با نام *Allium sativum* نیز شناخته می‌شود، یکی از اعضای خانواده *Alliaceae* است و از زمان‌های قدیم جزء ضروری غذای بشر بوده است و منبع غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی، ترکیبات گوگردی، اسانس‌ها، فنل‌ها و اسیدهای آمینه آزاد است. مطالعات اولیه در مورد بیوشیمیایی ترکیب سیر نشان‌دهنده وجود ترکیبات حاوی گوگرد من به‌ویژه پلی سولفیدها بود. چندین ترکیب فعال زیستی از سیر، از جمله آلئوسین (ALC)، آلئیل سولفید، آلئین، آجئون‌ها و 1,2-وینیل دیتین دارای اثرات درمانی به عنوان آنتی اکسیدان هستند (11,12). آلئوسین (دی آلئیل تیوسولفینات) یک ترکیب فعال زیستی حاوی گوگرد است که هنگام له کردن حبه سیر تولید می‌شود و منشأ بوی معمولی سیر است (13). آلئوسین دارای طیف گسترده‌ای از عملکردهای دارویی است که همه آن‌ها را می‌توان در فعالیت‌های ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد قارچی و

ضد تومور نشان داد (14). یک مطالعه آزمایشگاهی نشان داد که آلئوسین تولید گونه‌های فعال اکسیژن یا ROS (Reactive Oxygen Species) را کاهش می‌دهد و سطح گلوکاتایون را از طریق توانایی آنتی اکسیدانی آن در سلول‌های اندوتلیال افزایش می‌دهد (15). درمان با آلئوسین منجر به کاهش قابل توجهی در لاکتات دهیدروژناز پس از واقعه TBI در شرایط آزمایشگاهی و کاهش مرگ آپوپتوزی سلول‌های عصبی به روشی وابسته به دوز می‌گردد (16). در سال‌های اخیر چندین مطالعه بهبود مهارت‌های شناختی افراد بیمار را با استفاده از آلئوسین گزارش کرده‌اند. به عنوان مثال در یک مطالعه پیش بالینی، تجویز مس و آلومینیوم منجر به افزایش سطح سیتوکین‌های پیش التهابی، استرس اکسیداتیو و میزان نوروترنسمیترها شد، ولی تجویز آلئوسین سبب کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود میزان نوروترنسمیتر و کاهش سطح اینترلوکین‌های ضد التهاب گردید (17). تجویز آلئوسین می‌تواند ROS را با کاهش بیان آنزیم‌های تولیدکننده ROS و افزایش بیان کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و چندین نوع پراکسیداز کاهش دهد. آلئوسین یک ترکیب طبیعی مفید برای التهاب عصبی در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر و پارکینسون است و می‌تواند از نورون‌ها و سیستم عصبی محافظت کند و توانایی‌های شناختی بیماران مبتلا به بیماری‌های دژنراتیو را بهبود می‌بخشد (18). آلئوسین آسیب عصبی و اختلال عملکرد حرکتی را پس از جراحات مغزی کاهش می‌دهد و آسیب اکسیداتیو و التهاب عصبی را پس از TBI سرکوب می‌کند (19). پیش درمانی با آلئوسین می‌تواند استرس اکسیداتیو، فعالیت NADPH اکسیداز، التهاب، اختلال عملکرد زنجیره تنفسی میتوکندری و آپوپتوز را کاهش دهد. علاوه بر این، آلئوسین همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی درون‌زا از جمله کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و گلوکاتایون S-ترانسفراز (GST) را افزایش داد و رگ‌زایی را در ناحیه اطراف انفارکتوس

زیاد می‌نماید (20). سیتوکاین‌ها پروتئین‌هایی هستند که به صورت پاراکرین و اندوکرین ترشح می‌شوند و افزایش IL-1 β ارتباط قوی با میزان جراحی مغزی دارد (21). IL-10 یک سایتوکاین قوی بوده که دارای اثرات ضد التهابی و عملکرد تنظیم ایمنی می‌باشد و سبب رفع التهاب در مغز به وسیله کاهش تولید سیتوکاین‌های پیش التهابی و سرکوبی بیان و فعالیت گیرنده‌های سیتوکاین‌ها می‌گردد و یافته‌های پیش کلینیکی ثابت نموده که IL-10 یک فاکتور نوروپروتکتیو نیز می‌باشد (22). حال با توجه به این که آلیسین دارای اثرات محافظت نوروئی (نوروپروتکتیو)، ضد التهابی است و می‌تواند از سد خونی مغزی (BBB) رد شود، لذا در این مطالعه به دنبال این مسئله بودیم که آیا آلیسین می‌تواند در فرایند ضربه مغزی منتشره به روش مارمارو موثر باشد؟ و ثانیاً از آنجایی که مشخص شده است آلیسین روی اینترلوکین‌ها و التهاب عصبی (neuroinflammation) موثر است، فرضیه دیگری که در مطالعه حاضر مورد آزمون قرار گرفت این بود که آیا مکانیسم اثر احتمالی محافظت نوروئی آلیسین از مسیر اینترلوکین‌ها است یا خیر؟

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مداخله‌ای تجربی از 56 سر موش صحرایی بالغ نر با وزن 200 تا 250 گرم از نژاد ویستار استفاده شد که در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و درجه حرارت 21 ± 2 سانتی‌گراد نگهداری شدند و نیز محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند. این پژوهش طی مجوز شماره IR.MAZUMS.4.REC.1400.13840 کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام گرفته است.

گروه‌بندی نمونه‌ها به شکل زیر صورت پذیرفت

1- گروه Intact: موش‌های صحرایی نر که تحت هیچ نوع مداخله‌ای قرار نگرفتند (24,23). 2- گروه شم (sham): موش‌های صحرایی نر که فقط بیهوش شده و به‌طور کاذب تحت ضربه مغزی قرار گرفتند (24,23).

3- گروه ضربه مغزی (TBI): موش‌های صحرایی که بعد از بیهوشی تحت ضربه مغزی قرار گرفتند (24,23). 4- گروه حلال (2% TBI+DMSO): به موش‌های صحرایی نر حلال دارو (2% DMSO)، نیم ساعت بعد از ضربه مغزی تزریق شد (20,19). 5- گروه دوزهای 25، 50، 100mg/kg: به موش‌های صحرایی دوز 25، 50، 100 mg/kg آلیسین (Allicin) نیم ساعت بعد از ضربه مغزی تزریق شد، تمام دوز دارو و حلال آن به صورت داخل صفاقی تجویز گردید (20,19).

روش اجرا

الف - روش آماده سازی، اعمال جراحی و روش ایجاد خیز مغزی

بر اساس مطالعه قبلی ما (24,23) قبل از انجام عمل، بیهوشی حیوانات با استفاده از کتامین (50mg/kg) و زایلازین (10mg/kg) همراه با ایجاد بیدردی با کوکتل میدازولام (2 mg/kg) به صورت زیر جلدی و مدت‌مدین (0/1mg/kg) انجام گرفت (25). ضربه با وزنه 300 گرمی به سر حیوان وارد گردید. بلافاصله بعد از ضربه صفحه فلزی را از سر حیوان جدا کرده و پس از برقراری تنفس خود به خودی اتصال حیوان با دستگاه تهویه دستی را قطع کردیم. حیوان در این مرحله به قفس و حیوان خانه انتقال داده شد (26-28).

ب - روش اندازه‌گیری نفوذپذیری عروق یا روش سنجش سلامت سد خونی - مغزی

سنجش سلامت سد خونی - مغزی از طریق اندازه‌گیری میزان رنگ آبی ایوانز در خارج از عروق اندازه‌گیری شد. طبق مطالعه قبلی ما میزان نفوذپذیری عروق مغزی 4 ساعت پس از تروما با استفاده از تزریق محلول آبی ایوانز که از طریق ورید ژوگولار به حیوان تزریق شده و اندازه‌گیری گردید. بدین ترتیب که 20 mg/kg رنگ آبی ایوانز 2 درصد (1ml/kg) از طریق ورید ژوگولار با استفاده از سرنگ انسولین تزریق شد. میزان محلول آبی ایوانز را در طول موج 610nm اندازه گرفتیم (24,23).

ج- روش اندازه گیری محتوای آب مغز

میزان خیز مغزی با استفاده از محتوای آب مغزی اندازه گیری شد. محتوای آب مغز بعد از خارج کردن بافت مغز در پایان روز دوم پس از اعمال ضربه به سر و بعد از بیهوشی با اتر اندازه گیری شد که مغز سریعاً بدون دست کاری زیاد خارج شده و سپس وزن آن اندازه گیری شد و بعد در دمای 70-60 درجه سانتی گراد به مدت 72 ساعت قرار گرفت تا میزان وزن بافت خشک به دست آمده و در نهایت با استفاده از فرمول زیر میزان آب بافت مغز به عنوان شاخص ادم محاسبه گردید (29).

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

د- ارزیابی پیامد های نمرات نورولوژیک

پیامد نورولوژیک با استفاده از نمرات نورولوژیک که با استفاده از یک جدول (Veterinary Coma Scale: VCS) که دارای 15 نمره (1-15) است ارزیابی می شود که از مجموع سه نمره اعمال حرکتی (1-8)، اعمال چشمی (1-4) و اعمال تنفسی (1-3) براساس 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 (29).

ر- ارزیابی عملکرد حرکتی (beam tasks)

عملکرد حرکتی، با استفاده از beam-walk (BW) و beam-balance (BB) ارزیابی شد، یک beam چوبی با پهنای کم (پهنای 1/5 سانتی متر) و دارای ارتفاع (90 سانتی متر)، قرار گرفت و زمانی که موش صحرایی، برای حداکثر 60 ثانیه قرار روی beam (میل) مانند ثبت شده است. در تست BW، موش صحرایی با استفاده از پارادایم تقویت منفی، از نور و noise، فرار کرد که از beam با پهنای کم و دارای ارتفاع، عبور کرده و به جعبه تاریک هدف در انتهای مقابل، وارد شد. در تست زمان سپری شده برای عبور از beam و فاصله طی شده ارزیابی شد (30).

ز- رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین

مغزهای موش ها به منظور تثبیت به فرمالین 10 درصد منتقل شد و بعد از 48 ساعت وارد روند آبگیری، شفاف سازی، حمام پارافین و قالب گیری شدند. سپس به وسیله میکروتوم برش هایی به ضخامت 6 میکرون از آنها تهیه شده و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین - ائوزین تحت بررسی و عکس برداری به وسیله میکروسکوپ نوری قرار گرفتند و تغییرات بافتی در پنج لام و در پنج میدان دید به صورت تصادفی ارزیابی گردید. به منظور شمارش سلولی و محاسبه درصد از نرم افزار ImageJ استفاده شد. نمونه ها توسط دو پاتولوژیست جداگانه که نسبت به گروه های حیوانی و داروی مصرف شده بی اطلاع بودند بررسی شد (31).

د- جمع آوری نمونه از CSF و اندازه گیری اینترلوکین ها به روش ELISA در مایع CSF

پیش از جمع آوری CSF ابتدا حیوان را با کتامین و زایلازین بیهوش کرده، سر حیوان را در داخل استرئو تاکس فیکس کرده تا پاسخ Yes or No دیده شود (32، 33). بعد از جمع آوری CSF از حیوان در پایان روز سوم با استفاده از کیت های مربوطه به روش الایزا میزان اینترلوکین ها در طول موج 450nm اندازه گیری شد (34).

تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی آماری

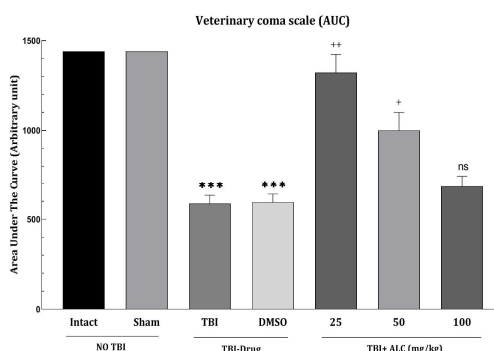
جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروه های مورد آزمون در صورت رعایت مفروضات ابتدا برای بررسی اختلاف بین گروه ها از آزمون repeated-measure ANOVA استفاده کرده و سپس آزمون ANOVA یک طرفه در صورت نیاز از post test نیومن کولز و دوطرفه (Tukey post test) استفاده شده و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار Prism8 GraphPad انجام گردید. در تمام موارد سطح معنی داری 0/05 (P < 0/05) در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

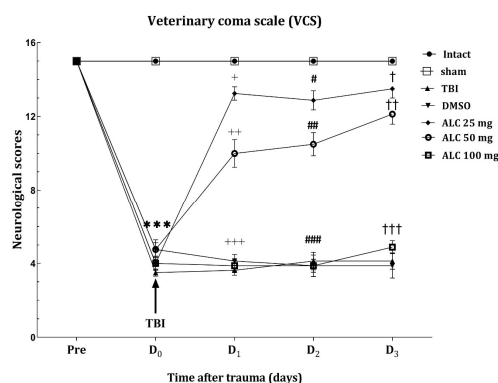
همان‌طور که در نمودار شماره 1 نشان داده شده نمرات نورولوژیک قبل از ضربه در زمان ضربه و روز اول و دوم و سوم پس از ضربه مغزی اندازه‌گیری و ثبت شده است. آزمون آماری two-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey نشان داده است که ترومای مغزی سبب کاهش نمرات نورولوژیکی در گروه‌های DMSO، TBI و دوزهای 25، 50 و 100 mg/kg آلپسین در زمان D0 گردیده است ($P < 0/001$) ولیکن با تجویز دوزهای 25 و 50 mg/kg آلپسین به صورت داخل صفاقی میزان نمرات نورولوژیکی افزایش پیدا کرده و به گروه‌های Intact و Sham نزدیک شده است. اما در دوز 100 mg/kg تغییرات صورت نگرفته یعنی دوز 100 میلی گرم بر نمرات نورولوژیکی تاثیری نداشته است ($P > 0/05$). در این نمودار مشهود است که ALC، 25mg منجر به افزایش VCS به بیش‌ترین مقدار با کم‌ترین اختلاف در مقایسه با گروه Intact و Sham شده است ($P < 0/001$).

$P < 0/05$ ؛ $P < 0/01$ ## و $P < 0/001$ ###: اختلاف معنی‌داری
Intact و TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه Intact و sham در زمان D₂
 $P < 0/05$ ؛ $P < 0/01$ ++ و $P < 0/001$ +++: اختلاف معنی‌داری
Intact و TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه Intact و sham در زمان D₃
داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است.
در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

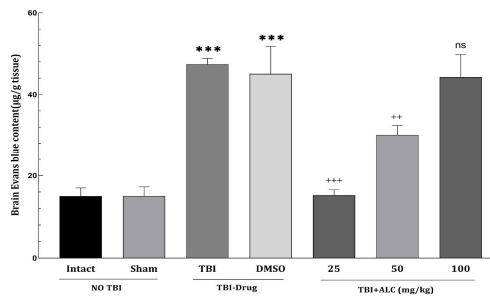
همان‌طور که در تصویر شماره 2 نشان داده شده است آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داده است که در گروه‌های Intact and sham بیش‌ترین سطح زیر نمودار دیده شد و در گروه‌های TBI و DMSO و دوز 100 میلی گرم آلپسین کم‌ترین مقدار AUC دیده می‌شود تجویز داخل صفاقی دوزهای 25 و 50 میلی گرم ALC سبب افزایش معنی‌داری در در مقادیر AUC گردیده است ($P < 0/001$) ولیکن در دوز 100 میلی گرم این یافته‌ها معنی‌دار نشده و تاثیری نداشته است ($P > 0/05$).



نمودار شماره 2: اثر آلپسین بر روی مساحت سطح زیر نمودار VCS. اثر تجویز داخل صفاقی آلپسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر مساحت سطح زیر نمودار نمرات نورولوژیکی بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر. $P < 0/001$ ***: اختلاف معنی‌دار گروه‌های TBI و DMSO با گروه‌های Intact و Sham
 $P < 0/05$ ؛ $P < 0/01$ ++: به ترتیب تفاوت معنی‌دار گروه ALC 50 و ALC 25 با گروه‌های TBI و DMSO
داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.



نمودار شماره 1: اثر آلپسین بر روی نمرات نورولوژیکی. اثر تجویز داخل صفاقی آلپسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر روی نمرات نورولوژیکی بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر. $P < 0/001$ ***: اختلاف معنی‌داری TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه Intact و sham در زمان D0
 $P < 0/05$ ؛ $P < 0/01$ ++ و $P < 0/001$ +++: اختلاف معنی‌داری TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه Intact و sham در زمان D₁

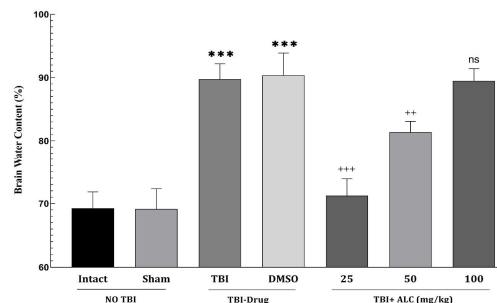


نمودار شماره 4: آلیسین بر میزان رنگ آبی ایوانز، اثر تجویز داخل صفاقی آلیسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر میزان محتوای رنگ آبی ایوانز بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر.

0/001 < P < ***: اختلاف معنی دار گروه های TBI و DMSO با گروه های Intact و Sham
 0/01 < P < +++، 0/001 < P < +++: به ترتیب تفاوت معنی دار گروه 50 ALC و 25 ALC با گروه های TBI و DMSO
 داده ها به صورت میانگین ± انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

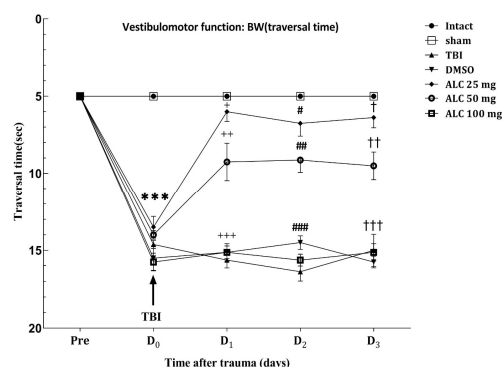
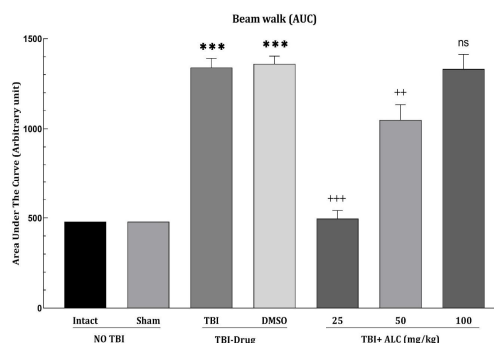
همان طور که در تصویر شماره 5 دیده می شود آنالیز آماری Two-way ANOVA تست تعقیبی آن Tukey نشان داده که تجویز داخل صفاقی آلیسین سبب کاهش معنی داری در مدت زمان عبور حیوان از روی میله beam می گردد این زمان در حیوان نرمال حدود 5 ثانیه است و به محض القای ضربه مغزی Traversal time شروع به افزایش کرده و در گروه های TBI و DMSO به حدود 15 ثانیه می رسد که این افزایش مدت زمان عبور از Beam در روز القای ضربه مغزی (D0) نسبت به گروه sham و Intact معنی دار شده است (P < 0/001). اما در روز اول تا سوم بعد از ضربه مغزی (D1-D3) تزریق آلیسین با دوزهای 25 و 50 mg/kg سبب کاهش زمان عبور از میله Beam در جهت نزدیک شدن به گروه های Intact و sham گردیده است به طوری که با گذشت زمان این اختلاف معنی دار بین گروه های درمانی و گروه کنترل Intact و sham کاهش می یابد (P < 0/05). ولی در دوز 100 میلی گرم اثری مشاهده نگردیده و بین این گروه و گروه های کنترل حلال (DMSO) و TBI اختلافی وجود ندارد (P > 0/05).

همان طور که در نمودار شماره 3 نشان داده شده است براساس آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز ضربه مغزی منجر به افزایش محتوای آب مغزی می شود و از سوی دیگر تزریق داخل فضای صفاق آلیسین در دوزهای 25 و 50 میلی گرم توانسته این مقدار افزایش آب مغزی را تا مقدار زیادی کاهش دهد (P < 0/001). ولیکن در دوز 100 میلی گرم تاثیری بر میزان محتوای آب مغز نداشته است (P > 0/05).



نمودار شماره 3: اثر آلیسین بر روی ادم مغزی، اثر تجویز داخل صفاقی آلیسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر میزان محتوای آب مغز بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر.
 0/001 < P < ***: اختلاف معنی دار گروه های TBI و DMSO با گروه های Intact و Sham
 0/01 < P < +++، 0/001 < P < +++: به ترتیب تفاوت معنی دار گروه 50 ALC و 25 ALC با گروه های TBI و DMSO
 داده ها به صورت میانگین ± انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

همان طور که در نمودار شماره 4 نشان داده شده است بر اساس آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز ضربه مغزی موجب افزایش محتوای رنگ آبی ایوانز در مغز موش ها شده (P < 0/001) و آلیسین در دوزهای 25 و 50 در دوز موثر (25 و 50 mg/kg) موجب کاهش میزان این شاخص یعنی کاهش میزان نفوذپذیری سد خونی - مغزی شده است (P < 0/001). ولی در دوز 100mg/kg آلیسین اختلاف معنی داری دیده نشده است یعنی دوز 100 میلی گرم آلیسین اثری بر روی سلامت سد خونی مغزی نداشته است (P > 0/05).



نمودار شماره 6: اثر آلکسین بر مساحت زیر سطح نمودار بین والک. اثر تجویز داخل صفافی آلکسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر مساحت سطح زیر نمودار نمرات شاخص تعادلی - حرکتی beam walk بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر.

*** $P < 0/001$: اختلاف معنی دار گروه های TBI و DMSO با گروه های Intact و Sham
 $+++P < 0/001$ ؛ $++P < 0/01$: به ترتیب تفاوت معنی دار گروه ALC 25 و ALC 50 با گروه های TBI و DMSO
 داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

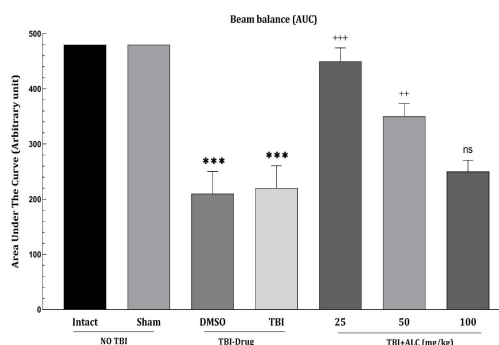
همان طور که در نمودار شماره 7 دیده می شود آنالیز آماری Two-way ANOVA تست تعقیبی آن Tukey نشان داده که تجویز داخل صفافی آلکسین در دوز 25 و مخصوصاً 50 میلی گرم سبب افزایش معنی داری در نمرات تعادلی - حرکتی روی میله beam می گردد به محض القای ضربه مغزی Vestibulomotor score شروع به کاهش کرده و در گروه های TBI و DMSO در روز القای ضربه مغزی (D0) نسبت به گروه sham و Intact معنی دار شده است ($P < 0/001$). اما در روز اول بعد از ضربه مغزی (D1) تزریق داروی با دوزهای 25 و 50 mg/kg سبب افزایش نمرات تعادلی - حرکتی در جهت نزدیک شدن به گروه های Intact و sham شده است به طوری که با گذشت زمان این اختلاف معنی دار بین گروه های درمانی و گروه کنترل Intact و sham کاهش می یابد ($P < 0/05$). ولیکن در همین روز اول (D1) پس از ضربه مغزی همان طور که مشاهده می گردد

نمودار شماره 5: اثر آلکسین بر بین والک. اثر تجویز داخل صفافی آلکسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر روی نمرات شاخص تعادلی - حرکتی beam walk بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر.

*** $P < 0/001$: اختلاف معنی داری TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه sham و Intact در زمان D0
 $++P < 0/01$ ؛ $++P < 0/05$ ؛ $+++P < 0/001$: اختلاف معنی داری TBI، ALC 25، DMSO، ALC 50 و ALC 100 از گروه sham و Intact در زمان D1
 $##P < 0/01$ ؛ $###P < 0/001$ ؛ $\#P < 0/05$: اختلاف معنی داری TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه sham و Intact در زمان D2
 $++P < 0/01$ ؛ $+++P < 0/001$ ؛ $\dagger P < 0/05$ ؛ $\dagger\dagger P < 0/01$: اختلاف معنی داری TBI، DMSO، ALC 25، ALC 50 و ALC 100 از گروه sham و Intact در زمان D3
 داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

همان طور که در نمودار شماره 6 نشان داده شده است آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داده است که در گروه های Intact and sham - کم ترین سطح زیر نمودار دیده شده است و در گروه های TBI و DMSO و دوز 100 میلی گرم آلکسین بیش ترین مقدار AUC دیده می شود. تجویز داخل صفافی دوزهای 25 و 50 میلی گرم آلکسین سبب کاهش معنی داری در در مقادیر AUC گردیده است ($P < 0/001$) ولیکن در دوز 100 میلی گرم این یافته ها معنی دار نشده و تاثیری نداشته است ($P > 0/05$).

Intact and sham - بیشترین سطح زیر نمودار دیده شده است و در گروه های TBI و DMSO و دوز 100 میلی گرم آلیسین کمترین مقدار AUC دیده می شود تجویز داخل صفاقی دوزهای 25 و 50 میلی گرم آلیسین سبب افزایش معنی داری در در مقادیر AUC شده است ($P < 0/001$) ولیکن در دوز 100 میلی گرم این یافته ها معنی دار نشده و تاثیری نداشته است ($P > 0/05$).

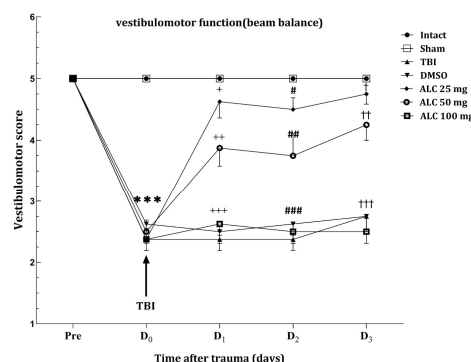


نمودار شماره 8: اثر آلیسین بر مساحت زیر سطح نمودار میله تعادلی - حرکتی. اثر تجویز داخل صفاقی آلیسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر مساحت سطح زیر نمودار نمرات شاخص تعادلی - حرکتی beam balance بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر.

$P < 0/001$ ***: اختلاف معنی دار گروه های TBI و DMSO با گروه های Intact و Sham
 $P < 0/01$ ++، $P < 0/001$ +++: به ترتیب تفاوت معنی دار گروه 25 و 50 ALC با گروه های TBI و DMSO
داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

همان طور که در نمودار شماره 9 نشان داده شده است آنالیز آماری One-way ANOVA به همراه تست تعقیبی نیومن کولز نشان داده است که تجویز دوزهای مختلف آلیسین سبب افزایش معنی داری در میزان IL-10 مایع CSF می گردد، به این صورت که میزان IL-10 به دنبال القای ترومای مغزی این میزان شروع به کاهش نموده که نسبت به گروه کنترل بدون ضربه مغزی (intact و sham) اختلاف معنی دار شده است ($P < 0/001$). اما به دنبال تجویز دارو آلیسین میزان IL-10 مایع مغزی

اختلاف بین گروه های آلیسین با دوز 10 و 20 میلی گرم با گروه های کنترل حلال (DMSO) و TBI روبه روند افزایشی گذاشته ($P < 0/001$) که نشان دهنده وضعیت بهبودی در نمرات حرکتی - تعادلی می باشد ولی در دوز 100 میلی گرم اثری مشاهده نشده و بین این گروه و گروه های کنترل حلال (DMSO) و TBI اختلافی وجود ندارد ($P > 0/05$).

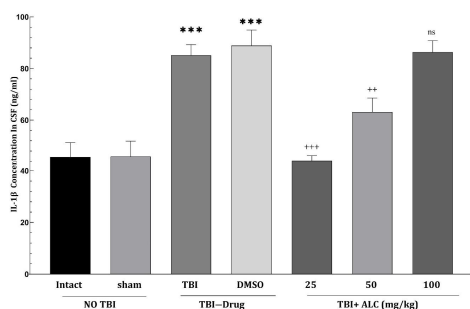


نمودار شماره 7: اثر آلیسین بر باقیماندن بر روی میله تعادلی - حرکتی. اثر تجویز داخل صفاقی آلیسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر روی نمرات شاخص تعادلی - حرکتی beam balance (بر مدت زمان باقیماندن حیوان روی میله) بعد از ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر.

$P < 0/001$ ***: اختلاف معنی داری TBI، DMSO، 25 ALC، 50 ALC و 100 ALC از گروه Intact و sham در زمان D0
 $P < 0/05$ +، $P < 0/01$ ++، $P < 0/001$ +++: اختلاف معنی داری TBI، DMSO، 25 ALC، 50 ALC و 100 ALC از گروه Intact و sham در زمان D1
 $P < 0/05$ +، $P < 0/01$ ++، $P < 0/001$ +++: اختلاف معنی داری TBI، DMSO، 25 ALC، 50 ALC و 100 ALC از گروه Intact و sham در زمان D2
داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

همان طور که در نمودار شماره 8 نشان داده شده است آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داده است که در گروه های

می‌باشد و بعد از ترومای مغزی افزایش می‌یابد. ولی در گروه درمان شده با آلپسین 25 و 50 mg/kg میزان IL-1 β کاهش پیدا کرده است که نسبت به گروه کنترل (DMSO) و TBI این اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0/001$). در گروه درمان شده با آلپسین 100 میلی گرم اختلاف معنی‌دار نبوده و کاهش در میزان IL-1 β مشاهده نمی‌گردد ($P>0/05$).

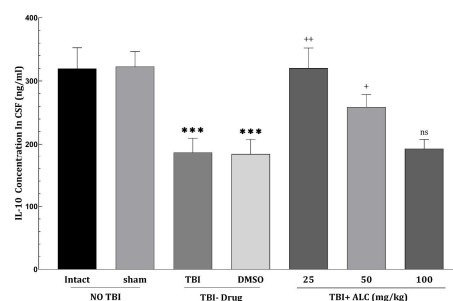


نمودار شماره 10: اثر آلپسین بر روی میزان اینترلوکین 1 β در مایع مغزی نخاعی. اثر تجویز داخل صفاقی آلپسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر میزان IL-1 β موجود در مایع CSF بعد از ترومای مغزی در موش صحرایی نر. اختلاف معنی‌دار گروه‌های TBI و DMSO با گروه‌های Intact و Sham: $***P<0/001$; به ترتیب تفاوت معنی‌دار گروه 50 ALC و 25 ALC با گروه‌های TBI و DMSO: $+++P<0/001$; به ترتیب تفاوت معنی‌دار گروه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

یافته‌های هیستولوژیکی

همان‌طور که در تصویر شماره 1 مشاهده می‌گردد یافته‌های هیستولوژیکی در موش‌های گروه‌های Intact و Sham شامل نورون‌های نرمال با هسته وزیکولار بزرگ مرکزی و نورگلیاها می‌باشد در حالی که در اثر ضربه مغزی نورون‌ها دژنره شده، هسته‌های آن‌ها چروکیده و به شدت رنگ گرفته به همراه ادم پری‌نورال، احتقان عروقی، ادم پری و سکولار دیده می‌شود. در اثر تجویز دوزهای مختلف آلپسین نورون‌ها به صورت وابسته به دوز سبب بهبودی ساختار نورونی گردید و اختلاف بین

نخاعی افزایش پیدا کرده به‌طوری که در گروه 25 میلی گرم و گروه 50 میلی گرم آلپسین اختلاف بین این گروه‌ها و گروه intact و sham به حداقل مقدار موجود رسیده و دارو توانسته این کاهش در غلظت اینترلوکین 10 ضد التهابی را بهبود ببخشد، به‌طوری که با گروه کنترل با ضربه مغزی (DMSO [حلال] و TBI) اختلاف به شدت معنی‌دار می‌باشد ($P<0/001$). ولی در گروه 100 میلی گرم آلپسین تاثیری در میزان IL-10 در مایع CSF نداشته است ($P>0/05$).



نمودار شماره 9: اثر آلپسین بر روی میزان اینترلوکین 10 در مایع مغزی و نخاعی. اثر تجویز داخل صفاقی آلپسین در دوزهای 25، 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم بر میزان IL-10 در مایع CSF بعد از ترومای مغزی در موش صحرایی نر. اختلاف معنی‌دار گروه‌های TBI و DMSO با گروه‌های Intact و Sham: $***P<0/001$; به ترتیب تفاوت معنی‌دار گروه 50 ALC و 25 ALC با گروه‌های TBI و DMSO: $+++P<0/001$; به ترتیب تفاوت معنی‌دار گروه داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف از معیار نمایش داده شده است. در هر گروه 6 الی 8 سر موش صحرایی قرار دارد.

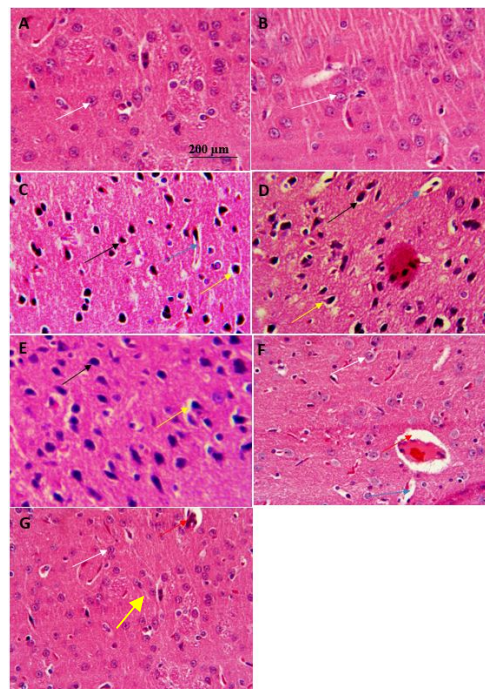
همان‌طور که در نمودار شماره 10 بیان شده آنالیز آماری One-way ANOVA به همراه تست تعقیبی نیومن کولز نشان داده است که تجویز دوزهای مختلف آلپسین سبب کاهش معنی‌داری در میزان اینترلوکین 1 β بتا مایع CSF می‌گردد، به این صورت که با ایجاد ترومای مغزی میزان IL-1 β در مایع CSF به مقدار زیادی افزایش پیدا کرده است ($P<0/001$). همان‌طور که می‌دانیم این اینترلوکین یک اینترلوکین التهاب‌زا

بحث

گروه‌های Intact و Sham با گروه‌های درمانی کاهش چشمگیری پیدا کرده است.

این مطالعه با هدف بررسی اثرات نوروپروتکتیو آلیسین بر روی نمرات نورولوژیکی، سلامت سد خونی - مغزی و ادم مغزی به دنبال القای ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر به صورت یک مطالعه رفتاری، بیوشیمیایی و هیستولوژیکی انجام شد. از این رو درمان آن نیز مهم شمرده شده و بسیار حائز اهمیت است. در این مطالعه، محتوای آب مغز موش‌ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. به دنبال بررسی محتوای آب مغز موش‌ها، نتایج نشان داد که علی‌رغم این که ضربه مغزی منجر به افزایش محتوای آب مغزی و به عبارت دیگر باعث ایجاد ادم مغزی می‌شود، داروی آلیسین می‌تواند باعث کاهش میزان ادم مغزی در روز سوم پس از القای ضربه مغزی شود. در بررسی نتایج حاصل از مطالعه می‌توان دریافت محتوای آب مغزی در گروهی که آلیسین با دوز 25 mg/kg دریافت کرده‌اند اختلاف معنی‌داری با گروه intact و sham ندارند. آلیسین با دوز 50 mg/kg نیز توانسته باعث کاهش ادم مغزی شود، اما به وضوح میزان این کاهش ادم مغزی در گروه آلیسین 25 mg/kg بیش‌تر بود و همچنین محتوای آب مغز در گروه 100 mg/kg با گروه TBI و DMSO که هیچ دارویی دریافت نکرده‌اند، اختلاف معنی‌داری نداشت که این نشان می‌دهد این دوز از دارو بر روی ادم مغزی تأثیرگذار نبوده است. آلیسین به عنوان یکی از ترکیبات فعال سیر دارای عملکردهای دارویی بسیاری از جمله فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است (20).

در مطالعه ما نیز تجویز آلیسین سبب افزایش سیتوکاین ضد التهابی و کاهش سیتوکاین التهاب را شده است. مطالعات نشان داده‌اند که آلیسین می‌تواند از طریق مهار مسیرهای سیگنالینگ وابسته به سیستم عامل، افزایش فعالیت‌های SOD و کاهش سطح MDA در برابر اختلالات حافظه و یادگیری از مغز محافظت کند (35). با استفاده از ایسکمی - ریپرفیوژن نخاعی Zhu و همکاران دریافتند که درمان 50 mg/kg آلیسین، حجم



تصویر شماره 1: A, B - تصویر میکروسکوپی از قشر مغز رت‌های بالغ در گروه intact و sham - نورون‌های نرمال با هسته و زیگولار بزرگ مرکزی نشان داده (فلش سفید رنگ) شده است. C - تصویر میکروسکوپی از قشر مغز رت‌های بالغ در گروه TBI - نورون‌های دژنره شده با هسته چروکیده و به شدت رنگ گرفته به همراه ادم پری‌نورال (فلش زرد)، احتقان عروقی (فلش آبی)، ادم پری‌وسکولار دیده می‌شود (فلش سیاه). D - تصویر میکروسکوپی از قشر مغز رت‌های بالغ در گروه TBI + DMSO - نورون‌های دژنره شده با هسته چروکیده و به شدت رنگ گرفته به همراه ادم پری‌نورال، احتقان عروقی، ادم پری‌وسکولار دیده می‌شود. E - تصویر میکروسکوپی از قشر مغز رت‌های بالغ در گروه‌های TBI تیمار شده با 25 mg/kg Allicin - نورون‌های دژنره شده با هسته چروکیده و به شدت رنگ گرفته به همراه ادم پری‌نورال دیده می‌شود. E - تصویر میکروسکوپی از قشر مغز رت‌های بالغ در گروه‌های TBI تیمار شده با 50 mg/kg Allicin - نورون‌های نرمال با هسته و زیگولار بزرگ مرکزی و نورگلیاها دیده می‌شود. F - تصویر میکروسکوپی از قشر مغز رت‌های بالغ در گروه‌های TBI تیمار شده با 100 mg/kg Allicin - نورون‌های نرمال با هسته و زیگولار بزرگ مرکزی و نورگلیاها مشاهده می‌شوند. بزرگنمایی تصویر 400× و رنگامیزی H&E می‌باشد

انفارکتوس را به طور قابل توجهی کاهش داد، تعداد نورون حرکتی را افزایش داد و عملکردهای عصبی را بهبود بخشید (36). همسو با مطالعه فعلی نیز تجویز دوز 25 و 50 میلی گرم آلایسن سبب بهبودی نمرات نورولوژیکی و شاخص های تعادلی و حرکتی شده است. سد خونی - مغزی مسئول تنظیم عملکرد سیستم عصبی مرکزی (CNS) از طریق تنظیم نقل و انتقالات سلولی و مولکولی بین خون و سیستم اعصاب مرکزی می باشد. اختلال در سد خونی - مغزی در بسیاری از بیماری های سیستم عصبی مرکزی و جراحی ها، مانند آسیب، سکته مغزی، ادم و پاسخ های التهابی مشاهده می شود. اختلال در سد خونی - مغزی باعث افزایش حجم مغز به دلیل تسهیل در حرکت آب و پروتئین های پلاسما به CNS و در نتیجه ادم و اوزونیک می گردد. این سبب از هم گسیختگی در غلاف میلین شده و واکنش بیش از حد از آستروسیت ها و اختلال در عملکرد عصبی را به همراه دارد؛ بنابراین مداخلات دارویی در زمینه درمان این آسیب و از هم گسیختگی سد خونی - مغزی و به دنبال آن طیف وسیع از اختلالات نورولوژیکی ضروری به نظر می رسد (37) گلیال ها نقش مهمی در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی در مغز دارند و علاوه بر ایجاد یک سد نورونی در مغز، به عنوان واحدهای عملکردی نیز قابل توجه هستند. نقص در سلول های گلیال نورودژنراسیون - اختلالات عصبی و شناختی و از دست دادن حافظه را در فرد ایجاد می کند (38). در این مطالعه به جهت مطالعه بر روی میزان نفوذپذیری سد خونی - مغزی، در گروه های مختلف مشخص شد که ضربه مغزی موجب افزایش محتوای رنگ آبی ایوانز در بافت خارج عروقی مغز موش ها که نشان دهنده افزایش میزان نفوذپذیری سد خونی مغزی است شده و آلایسن در دوز (25 و 50mg/kg) در کاهش میزان این شاخص مؤثر بوده و مقدار رنگ آبی ایوانز در این گروه ها با میزان این ماده در گروه های TBI و DMSO اختلاف معنی دار داشته است و از سوی دیگر با میزان آن در گروه intact و sham اختلاف

معنی داری ندارد. لازم به ذکر است دوز 25 mg/kg آلایسن نسبت به دوز 50mg/kg آن در مورد بهبود وضعیت نفوذپذیری سد خونی - مغزی مؤثر تر است. همچنین دوز 100 mg/kg در این مورد نیز مؤثر نبوده و گروهی که این میزان از دارو را دریافت کرده اند محتوای رنگ آبی ایوانز در بافت مغزشان اختلاف معنی داری با گروه TBI و DMSO ندارد. در سال 2021 Edres و همکاران بیان کردند که تجویز دوز 20 mg/kg سبب کاهش آسیب مغزی ناشی از آکریلامید (Acrylamide) می شود و همچنین آلایسن نوروپاتی ناشی از ACR با افزایش نوروترنسمیتر و هم چنین کاهش آسیب DNA و اثر ضد التهابی اثرات نوروپروتکتیو را القاء می کند (39). در مطالعه ما نیز اثرات نوروپروتکتیو در دوز 25 mg/kg به دست آمده است البته در دوزهای بالا احتمالاً دارو اثرات نوروتوکسیستی و آنتاگونیستی اعمال می نماید که نیاز به مطالعه بیش تری دارد. در سال 2020 Mazzei و همکارانش نشان دادند که آلایسن در محیط کشت سلول میکروگلیا از طریق تنظیم heat shock proteins و iNOS جراحی نورونی ناشی از لیپوپلی ساکارید (LPS) را بهبود بخشیده و هم چنین استرس اکسیداتیو و التهاب نورونی را کاهش می دهد (40)، که همسو با مطالعه ما بوده و آلایسن توانست در دوز 25 و 50 میلی گرم اثرات ضد التهابی برجای بگذارد.

Xiang و همکارانش در سال 2017 مشاهده کردند که تجویز آلایسن در رت ها سبب کاهش اختلالات شناختی ایجاد شده توسط تونیکامایسن از طریق افزایش تراکم خارهای دندریتی در گروه های تحت درمان با آلایسن شده و بیان سیناپتوفیزین و گیرنده گلوتامات-1 (GluR1) در نورون های هیپوکامپ زیاد گردید که نشان می دهد آلایسن نقش مهمی در تنظیم شکل پذیری سیناپسی دارد (41). هر چند در مطالعه حاضر اثرات حافظه و یادگیری بررسی نشده است، لیکن به نظر می رسد که آلایسن در این بخش هم مؤثر باشد، چون بهبودی نمرات نورولوژیکی را به همراه داشته است و روی سیستم عصبی

موش‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلف بررسی شد. بررسی نمره نورولوژیک (VCS) در 3 روز متوالی نشان داد گروهی که آلپسین با دوز 25 و 50 mg/kg دریافت کرده‌اند در تمامی زمان‌ها بالاترین نمره نورولوژیک را داشته‌اند، در روز سوم نمره نورولوژیک آن‌ها نسبت به سایر گروه‌ها نزدیک‌تر به گروه intact و sham بوده و همچنین روند افزایش VCS در این گروه سرعت بیش‌تری نسبت به گروه‌های دیگر داشته است.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود وظیفه می‌دانند که از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران جهت تامین بخش مالی این پروژه تشکر و قدردانی نمایند.

موثر بوده و در هیپوکمپ نیز به عنوان جایگاه حافظه موثر می‌باشد. در این مطالعه، به منظور بررسی عملکرد مغزی پس از ضربه در روزهای پس از ضربه مغزی، در گروه‌های مختلف مورد مطالعه به اطلاعات مربوط به پارامترهای Beam balance و Beam walk (traversal time) (Vestibular motor function) پرداخته شد. نتایج این بررسی نشان داد که گروه‌های DMSO، TBI و آلپسین 100 mg/kg در روزهای پس از ضربه حتی در روز سوم پس از ضربه بهبود چشمگیری در این زمینه نداشته‌اند و از سوی دیگر گروه‌های دریافت‌کننده آلپسین در دوزهای 25 و 50 mg/kg در روزهای پس از ضربه توانسته‌اند به سرعت خود را به گروه intact و sham نزدیک کنند و در روز سوم اختلاف معنی‌داری با این گروه‌ها نداشتند. در این مطالعه، نمره نورولوژیک

References

1. 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.
2. Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; 24(2): 133-150.
3. Saatman KE, Creed J, Raghupathi R. Calpain as a therapeutic target in traumatic brain injury. *Neurotherapeutics* 2010; 7(1): 31-42.
4. Aarabi B, Simard JM. Traumatic brain injury. *Curr Opin Crit Care* 2009; 15(6): 548-553.
5. Maas AI, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol* 2008; 7(8): 728-741.
6. Povlishock JT. The classification of traumatic brain injury (TBI) for targeted therapies. *J Neurotrauma* 2008; 25(7): 717-718.
7. Zauner A, Bullock R, Kuta AJ, Woodward J, Young HF. Glutamate release and cerebral blood flow after severe human head injury. *Acta Neurochir Suppl* 1996; 67: 40-44.
8. Hawthorne C, Piper I. Monitoring of intracranial pressure in patients with traumatic brain injury. *Front Neurol* 2014; 5: 121.
9. Schouten JW. Neuroprotection in traumatic brain injury: a complex struggle against the biology of nature. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13(2): 134-142.
10. Sharma D, Vavilala MS. Perioperative management of adult traumatic brain injury. *Anesthesiol Clin* 2012; 30(2): 333-346.
11. Lawson LD, Gardner CD. Composition, stability, and bioavailability of garlic products used in a clinical trial. *J Agric Food Chem* 2005; 53(16): 6254-6261.
12. Sajid M, Butt MS, Shehzad A, Tanweer S. Chemical and mineral analysis of garlic: a golden herb. *Pak J Food Sci* 2014; 24(1): 108-110.

13. Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke MC, Nwachukwu ID, Slusarenko AJ. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules* 2014; 19(8): 12591-12618.
14. Liu SG, Ren PY, Wang GY, Yao SX, He XJ. Allicin protects spinal cord neurons from glutamate-induced oxidative stress through regulating the heat shock protein 70/inducible nitric oxide synthase pathway. *Food Funct* 2015; 6(1): 320-330.
15. Horev-Azaria L, Eliav S, Izigov N, Pri-Chen S, Mirelman D, Miron T, et al. Allicin up-regulates cellular glutathione level in vascular endothelial cells. *Eur J Nutr* 2009; 48(2): 67-74.
16. Villmann C, Becker CM. On the hypes and falls in neuroprotection: targeting the NMDA receptor. *Neuroscientist* 2007; 13(6): 594-615.
17. Kaur S, Raj K, Gupta Y, Singh S. Allicin ameliorates aluminium-and copper-induced cognitive dysfunction in Wistar rats: relevance to neuro-inflammation, neurotransmitters and A β (1–42) analysis. *J Biol Inorg Chem* 2021; 26(4): 495-510.
18. Nadeem MS, Kazmi I, Ullah I, Muhammad K, Anwar F. Allicin, an Antioxidant and Neuroprotective Agent, Ameliorates Cognitive Impairment. *Antioxidants* 2022; 11(1): 87.
19. Shao J, Wu Q, Lv SY, Zhou XM, Zhang XS, Wen LL, et al. Allicin attenuates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage in rats. *J Clin Neurosci* 2019; 63: 202-208.
20. Kong X, Gong S, Su L, Li C, Kong Y. Neuroprotective effects of allicin on ischemia-reperfusion brain injury. *Oncotarget* 2017; 8(61): 104492-104507.
21. 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.
22. 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.
23. Rahimi S, Dadfar B, Tavakolian G, Rad AA, Shabkahi AR, Siahposht-Khachaki A. Morphine attenuates neuroinflammation and blood-brain barrier disruption following traumatic brain injury through the opioidergic system. *Brain Res Bull* 2021; 176: 103-111.
24. Ebrahimi H, Nezhad SK, Farmoudeh A, Babaei A, Ebrahimnejad P, Akbari E, et al. Design and optimization of metformin-loaded solid lipid nanoparticles for neuroprotective effects in a rat model of diffuse traumatic brain injury: A biochemical, behavioral, and histological study. *Eur J Pharm Biopharm* 2022; 181: 122-135.
25. 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. *Experimental Neurology* 2021; 335: 113516.
26. 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.
27. Asl SZ, Khaksari M, Khachki AS, Shahrokhi N, Nourizade S. Contribution of estrogen receptors alpha and beta in the brain response to traumatic brain injury. *J Neurosurg* 2013; 119(2): 353-361.

28. 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 (Persian).
29. Shadi S, Siahposht-Khachaki A, Hooshmand G. The neuroprotective effect of losartan after traumatic brain injury with marmaru method in male rat. *J Babol Univ Med Sci* 2022; 24(1):305-319 (Persian).
30. Monaco CM, Mattioli 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: 410-418.
31. Meymandi MS, Soltani Z, Sepehri G, Amiresmaili S, Farahani F, Aghtaei MM. Effects of pregabalin on brain edema, neurologic and histologic outcomes in experimental traumatic brain injury. *Brain Res Bull* 2018; 140: 169-175.
32. 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.
33. 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.
34. Colomba P, Fontana S, Salemi G, Barranca M, Lo Sicco C, Mazzola MA, et al. Identification of biomarkers in cerebrospinal fluid and serum of multiple sclerosis patients by immunoproteomics approach. *Int J Mol Sci* 2014; 15(12): 23269-23282.
35. Li XH, Li CY, Xiang ZG, Zhong F, Chen ZY, Lu JM. Allicin can reduce neuronal death and ameliorate the spatial memory impairment in Alzheimers disease models. *Neurosciences* 2010; 15(4): 237-243.
36. Zhu JW, Chen T, Guan J, Liu WB, Liu J. Neuroprotective effects of allicin on spinal cord ischemia-reperfusion injury via improvement of mitochondrial function in rabbits. *Neurochem Int* 2012; 61(5): 640-648.
37. 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. *Molecular Neurobiology* 2015; 51(2): 718-728.
38. 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.
39. Edres HA, Taha NM, Lebda MA, Elfeky MS. The potential neuroprotective effect of allicin and melatonin in acrylamide-induced brain damage in rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2021; 28(41): 58768-58780.
40. Mazzei L, Ruiz-Roso MB, De Las Heras N, Ballesteros S, Torrespalazzolo C, Ferder L, et al. Allicin neuroprotective effect during oxidative/inflammatory injury involves AT1-Hsp70-iNOS counterbalance axis. *Biocell* 2020; 44(4): 671-681.
41. Xiang Q, Li Xh, Yang B, Fang XX, Jia J, Ren J, et al. Allicin attenuates tunicamycin-induced cognitive deficits in rats via its synaptic plasticity regulatory activity. *Iran J Basic Med Sci* 2017; 20(6): 676-682.