Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

Neuroprotective Effect of Losartan after Traumatic Brain Injury in Male Rats Based on Marmarou Model

Sh. Shadi (MD)[1], A. Siahposht-Khachaki (PhD)[*1], Gh. Hooshmand (PhD)[2]

1.Immunogenic Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.

2.Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.

Article Type

Research Paper

Received:
Sep 4th 2021
Revised:
Nov 13rd 2021
Accepted:
Dec 18th 2021

ABSTRACT

Background and Objective: Traumatic brain injury is the most important cause of death among young people in the world. Considering the neuroprotective effect of losartan on the recovery of brain damage, the present study was conducted to investigate the effects of losartan on neurological severity scores, blood-brain barrier health, cerebral edema, and histological changes after the induction of traumatic brain injury in male rats.

Methods: In this experimental study, 60 male Wistar rats weighing 250 to 280 grams were assigned into 7 groups: 1) Intact, 2) Surgery Sham, 3) Traumatic brain injury, 4) Losartan solvent (saline), 5) Low dose of losartan (5 mg), 6) Medium dose of losartan (10 mg), 7) High dose of losartan (20 mg) and 6-8 rats were used in each group. 30 minutes after brain trauma, different doses of losartan were injected intraperitoneally based on the Marmarou weight drop model. Neurobehavioral testing was performed, and cerebral edema and blood-brain barrier health were evaluated in all groups and the animal's brain was then used for tissue staining.

Findings: Losartan in doses of 5 mg (79.75±4.36) and 10 mg (70.375±5.60) was able to reduce cerebral edema ($p<0.001$) and neurological severity scores (11±1.41, and 12.75±1.90), and improve the animal's coordination on the balance beam task (11.125±3.313) and (6.875±2.94), respectively ($p<0.001$). In the dose of 10 mg, the effects were more significant (6.875±2.94) ($p<0.001$). In terms of histology, losartan decreased perivascular edema, and neuronal necrosis, and decreased astrocytic edema. Losartan had no effect in the dose of 20 mg ($p>0.05$).

Conclusion: The results of the study showed that losartan improves the outcomes of brain injury, which requires more studies in the future to investigate the mechanisms of this effect.

Keywords: *Losartan, Traumatic Brain Injury, Cerebral Edema, Rat*.

Cite this article: Shadi Sh, Siahposht-Khachaki A, Hooshmand Gh. Neuroprotective Effect of Losartan after Traumatic Brain Injury in Male Rats Based on Marmarou Model. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2022; 24(1): 305-19.

© The Author(S).
Publisher: Babol University of Medical Sciences

[*]Corresponding Author: A. Siahposht-Khachaki (PhD)
Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.
Tel: +98 (11) 33543893. **E-mail:** siahposht@mazums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

اثر محافظت نورونی لوزارتان به دنبال ترومای شدید مغزی به روش مارمارو در موش صحرایی نر

شیوا شادی (MD)[1]، علی سیاه پشت خاچکی (PhD)[1*]، غلامرضا هوشمند (PhD)[2]

۱. مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۰/۶/۱۳
اصلاح:
۱۴۰۰/۸/۲۲
پذیرش:
۱۴۰۰/۹/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: ترومای شدید مغزی مهمترین عامل مرگ و میر در بین جوانان جهان می باشد. با توجه به تاثیر نوروپروتکتیو لوزارتان بر بهبود آسیب مغزی، این مطالعه با هدف بررسی اثرات لوزارتان بر روی نمرات نورولوژیکی، سلامت سد خونی- مغزی (Blood-Brain Barrier) و ادم مغزی، تغییرات هیستولوژیکی به دنبال القاء ترومای شدید مغزی در موش صحرایی نر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۶۰ سر موش های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰ تا ۲۸۰ گرم در ۷ گروه به ترتیب : ۱- Intact (دست نخورده)، ۲- شم (Surgery Sham)، ۳- ضربه مغزی، ۴- حلال لوزارتان (سالین)، ۵- دوز کم لوزارتان (5mg)، ۶- دوز متوسط (۱۰ mg) ۷- دوز بالای لوزارتان (۲۰ mg) و در هر گروه ۸-۶ سر استفاده شد. ۳۰ دقیقه بعد از ضربه مغزی با روش مارمارو (روش رهاسازی وزنه از ارتفاع) دوزهای مختلف لوزارتان به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در تمامی گروه ها تست رفتاری نورولوژیکی، خیز مغزی و سلامت سد خونی- مغزی اندازه گیری شده و سپس از مغز حیوان برای رنگ آمیزی بافتی استفاده گردید.

یافته‌ها: لوزارتان در دوزهای ۵ (۷۹/۷۵±۴/۳۶) و ۱۰ (۷۰/۳۷۵±۵/۶۰) میلی گرم توانست ادم مغزی را کاهش داده ($p<0/001$) و نمرات نورولوژیکی به ترتیب (۱/۴۱±۱۱) و (۱/۹۰±۱۲/۷۵) و تعادلی حیوان را در beam task به ترتیب (۳/۳۱۳±۱۱/۱۲۵) و (۲/۹۴±۶/۸۷۵) بهبود بخشد ($p<0/001$). در دوز ۱۰ میلی گرم اثرات معنی دار تر بوده است (۲/۹۴±۶/۸۷۵) ($p<0/001$). از نظر بافت شناسی نیز لوزارتان سبب کاهش ادم پری وسکولار، نکروز نورونی و کاهش ادم استروسیت ها گردید. لوزارتان در دوز ۲۰ میلی گرم تاثیری نداشت ($p>0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که لوزارتان موجب بهبود پیامدهای جراحت مغزی می گردد که برای بررسی مکانیسم های این اثر نیاز به مطالعات بیشتری در آینده می باشد.

واژه‌های کلیدی: لوزارتان، ضربه مغزی، خیز مغزی، موش صحرایی.

استناد: شیوا شادی، علی سیاه پشت خاچکی، غلامرضا هوشمند. اثر محافظت نورونی لوزارتان به دنبال ترومای شدید مغزی به روش مارمارو در موش صحرایی نر. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل، ۱۴۰۱؛ ۲۴(۱): ۱۹-۳۰۵.

© The Author(S).
Publisher: Babol University of Medical Sciences

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

▣ این مقاله مستخرج از پایان نامه شیوا شادی دانشجوی رشته دکترای پزشکی عمومی و طرح تحقیقاتی به شماره ۶۶۱۸ دانشگاه علوم پزشکی مازندران می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر علی سیاه پشت خاچکی
آدرس: ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی. تلفن: ۳۳۵۴۳۸۹۳-۰۱۱ رایانامه: siahposht@mazums.ac.ir

مقدمه

ضربه سر (Traumatic Brain Injury= TBI) شایع ترین علت آسیب مغزی تروماتیک است و عوارض ناشی از TBI در میان بازماندگان ترومای ناشی از تصادفات وسیله نقلیه، آسیب های ورزشی و آسیب های جنگی، قابل توجه است (۲و۱). تروما دو نوع آسیب اولیه و ثانویه در بافت مغز ایجاد می کند. در همه آسیب های مغزی سمیت ناشی از تحریک بیش از حد نورون توسط نوروترنسمیتر گلوتامات رخ می دهد که سبب ایجاد واکنش های پاتوفیزیولوژی پی در پی گردیده و موجب تخریب بافت مغز و مرگ سلولی می گردد. از آنجاییکه جراحت های اولیه غیر قابل بازگشت هستند، مداخلات کلینیکی بر روی جلوگیری و مهار آسیب های نورولوژیکی ناشی از جراحت های ثانویه تمرکز پیدا کرده اند (۳).

لوزارتان یک داروی ضد پرفشاری خون می باشد، همچنین در کاهش نارسایی کلیوی در افراد مبتلا به دیابت نوع II و نفروپاتی اثر دارد. انجمن دیابت آمریکا استفاده از این داروها را در کاهش نفروپاتی در بیماران و پروتئینوری توصیه کرده اند (۴). زارتان هایی که گیرنده های آنژیوتانسین II نوع ۱ را مسدود می کنند، به شدت محافظت کننده عصبی، ترمیم کننده عصبی و ضد التهاب هستند (۷-۵). لوزارتان (LOS) می‌تواند آسیب مغزی ثانویه ناشی از CCI (Controlled Cortical Impact model) را بهبود بخشد. لوزارتان حجم ضایعه مغزی، آپوپتوز عصبی و پروتئین درگیر در استرس اکسیداتیو را کاهش می دهد (۸). علاوه بر این، لوزارتان عملکرد نورولوژیکی را نیز بهبود می بخشد (۹). لوزارتان بیان پروتئین های اتصال محکم ZO-1 را افزایش داده و ادم مغزی و نشت از سد خونی مغزی را کاهش می دهد (۱۰). علاوه بر این، لوزارتان عامل التهابی TNF-α را مهار کرده و فاکتور ضد التهابی IL-10 را بهبود می بخشد (۱۱).

لوزارتان مانع از اسپاسم رگی بعد از جراحت مغزی خونریزی دهنده (Subarachnoid Hemorrhage= SAH) می شود. پس از SAH، لوزارتان به طور مثبت بر مسیر گیرنده اندوتلین -۱ به صورت آگونیستی مستقیم و غیر مستقیم غیر رقابتی تأثیر می‌گذارد. لوزارتان حداکثر انقباض ناشی از اندوتلین-۱ را کاهش می دهد. این اثر به دلیل مهار NO توسط L-NAME ناپدید می گردد. با توجه به این اثر اسپاسمولتیک لوزارتان علاوه بر اثرات شناخته شده آن (کاهش التهاب مغزی، بازگرداندن خود تنظیمی مغز و کاهش فعالیت صرع) و کاهش جراحت مغزی اولیه، به نظر می رسد لوزارتان دارای پتانسیل درمانی خوبی بعد از جراحت باشد (۱۲). مشخص شده که مهارکننده های آنژیوتانسین ۲ همانند لوزارتان که مورد بررسی این کار می باشد دارای اثر نوروپروتکتیو هستند و باعث کاهش التهاب و افزایش بیان مارکر IL-10 می گردد (۱۳).

لوزارتان به علت افزایش فعالیت کولینرژیک می تواند باعث افزایش حافظه شود (۱۴). در یک مطالعه نشان داده شد که در موش صحرایی مبتلا به فشار خون کلیوی در مقایسه با موش های سالم میزان استیل کولین استراز در هیپوکمپ و کورتکس آنها کم می باشد به همین جهت لوزارتان می تواند در حافظه و یادگیری سودمند باشد (۱۵) . لوزارتان می تواند باعث کاهش رفتارهای استرسی و حاصل از تنش باشد اما دیده شده است که در استرس عاطفی بیشتر از استرس فیزیکی کمک کننده است (۱۶). لوزارتان تاثیر مثبتی در ایسکمی- ریپرفیوژن دارد که این عمل با کاهش قابل ملاحظه ای از نیتریک اکساید سنتاز همراه می باشد و سبب کاهش انفارکتوس مغز و بهبود نتایج عصبی رفتاری شد (۱۷). بنابراین در مطالعه حاضر با توجه به مستندات و دلایل موجود یک بخش قابل بحث در مورد اثرات نوروپروتکتیو لوزارتان (LOS) وجود دارد که آیا واقعاً Losartan دارای اثرات نوروپروتکتیو روی ضربه مغزی ناشی از تروما (TBI) به روش مارمارو می باشد که روش جراحت آکسونی منتشره است و تمامی ساختارهای مغزی را درگیر می سازد؟ و ثانیاً، یافته های پاتولوژیکی مرتبط با این اثرات نوروپروتکتیو چیست؟ لذا در این مطالعه اثرات تزریق داخل صفاقی (IP) Losartan بر روی نمرات نورولوژیکی، ادم مغزی و نفوذپذیری سد خونی مغزی (Blood-Brain Barrier) بعد از القاء ترومای شدید مغزی به روش مارمارو بررسی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه مداخله ای تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد IR.MAZUMS.REC.1398.1251، از ۶۰ سر موش صحرایی بالغ نر با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از نژاد ویستار استفاده گردید که در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۲ سانتی گراد نگهداری شدند و نیز محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند. در این مطالعه تجربی، بر اساس مطالعات پیشین (۱۹و۱۸) از ۷ گروه کنترل و آزمون و در هر گروه ۸-۶ موش جمعاً ۶۰ سر موش صحرایی نر استفاده شد و در تمامی گروه ها نمرات نورولوژیکی، ادم مغزی، سلامت سد خونی- مغزی، نمرات حرکتی تعادلی به همراه یافته های هیستولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱-گروه Intact (دست نخورده): موش های صحرایی نر که تحت هیچ نوع مداخله ای قرار نگرفتند (۲۰)، ۲-گروه شم (Surgery Sham): موش های صحرایی نر که جراحی شده ولی ضربه مغزی نشده اند (۲۱و۲۰)، ۳-گروه ضربه مغزی (TBI): موش های صحرایی که بعد از بیهوشی تحت ضربه مغزی قرار

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

گرفته اند (۲۱و۲۰)، ۴-گروه حلال لوزارتان (سالین) (۲۳و۲۲)، ۵-گروه های دوز کم لوزارتان (۵ mg)، دوز متوسط (۱۰ mg) و دوز بالای لوزارتان (۲۰ mg) لوزارتان از شرکت سیگما (CAT Number: 124750-99-8) خریداری و تمام تزریقات به شکل داخل صفاقی (IP) انجام شد (۲۴).

الف- روش القای آسیب ترماتیک مغزی: قبل از انجام عمل، بیهوشی حیوانات، با استفاده از کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلیزین (۵ mg/kg) انجام گرفته و بعد از کانول گذاری در نای حیوان جهت کنترل تنفس و جلوگیری از هیپوکسی به پمپ تنفسی دستی (دستگاه تهویه مصنوعی به صورت آمبوبگ) وصل شد. سپس پوست سر باز شده، بین ناحیه برگما و لامبدای جمجمه حیوان ضربه مغزی وارد گردید و بلافاصله بعد از ضربه صفحه فلزی را از سر حیوان جدا کرده و پس از برقراری تنفس خود به خودی اتصال حیوان را با دستگاه تهویه مصنوعی (آمبوبگ دستی) قطع می کنیم. حیوان در این مرحله به قفس انتقال داده شد (۱۹و۱۸).

ب- روش سنجش سلامت سد خونی ـ مغزی: میزان نفوذ پذیری سد خونی- مغزی، ۶-۴ ساعت پس از تروما با استفاده از تزریق محلول آبی ایوانز از طریق ورید ژگولار اندازه گیری شد. بدین ترتیب که ۲۰ mg/kg رنگ آبی ایوانز ۲٪ (۱ ml/kg) از طریق ورید ژوگولار با استفاده از سرنگ انسولین تزریق شد. بعد از ترانس کاردیال پرفیوژن، مغز را به سرعت به طور کامل خارج کرده، قطعه قطعه کرده و پس از خرد کردن در ۲۰ میلی لیتر محلول (۱۴ میلی لیتر محلول استن + ۶ میلی لیتر سولفات سدیم) ریخته و آن را به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه Shaker قرار داده میزان محلول آبی ایوانز را با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۱۰ nm اندازه گیری شد و سپس در فرمول زیر میزان رنگ ایوانز بلو در هر میکروگرم بافت مغز محاسبه گردید (۲۵و۱۸).

$$\text{Evans blue Dye (µg) in brain tissue (g)} = \frac{۱۳/۲۴ \times ۲۰ \times \text{absorbance}}{\text{tissue weight}}$$

ج- روش اندازه گیری محتوای آب مغز: بعد از اندازه گیری وزن تر و خشک مغز (در دمای ۷۰-۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت) با استفاده از فرمول زیر میزان آب بافت مغز به عنوان شاخص ادم محاسبه شد (۲۶و۱۸).

$$\text{درصد محتوای آب} = \frac{\text{وزن بافت خشک} - \text{وزن بافت مرطوب}}{\text{وزن بافت مرطوب}} \times ۱۰۰$$

د- ارزیابی پیامد های نمرات نورولوژیک (Veterinary Coma Scale): ارزیابی پیامدهای نورولوژیک با استفاده از جدول نمرات نورولوژیک (VCS) که دارای ۱۵ نمره بوده (۱۵-۱) انجام شد که از مجموع سه نمره اعمال حرکتی (۸-۱)، اعمال چشمی (۴-۱) و اعمال تنفسی (۳-۱) در تمامی روزها اندازه گیری گردید (۲۱و۱۸).

ر- ارزیابی عملکرد حرکتی و تعادلی (beam tasks): عملکرد حرکتی- تعادلی، با استفاده از beam-walk (BW) و beam-balance (BB) ارزیابی شد، معیارهای نمره دهی برای فاصله طی شده، بر اساس صفر تا ۵ بود که نمره صفر ناتوانی برای حرکت کردن از نقطه شروع را نشان خواهد داد، نمرات ۱ تا ۴ به ترتیب مطابق با قطعات دیستال ۶۰، ۴۰، ۲۰ یا ۸۰ سانتی متری از نقطه شروع بوده و نمره ۵ عبور از طول کامل beam (۱۰۰ سانتی متر) و ورود به جعبه هدف را نشان داد. موش های صحرایی طبیعی، beam task را بدون خطا (یعنی حفظ تعادل شان برای ۶۰ ثانیه (BB) و عبور از (BW) در زمان ۵ ثانیه انجام دادند (۲۷و۱۹).

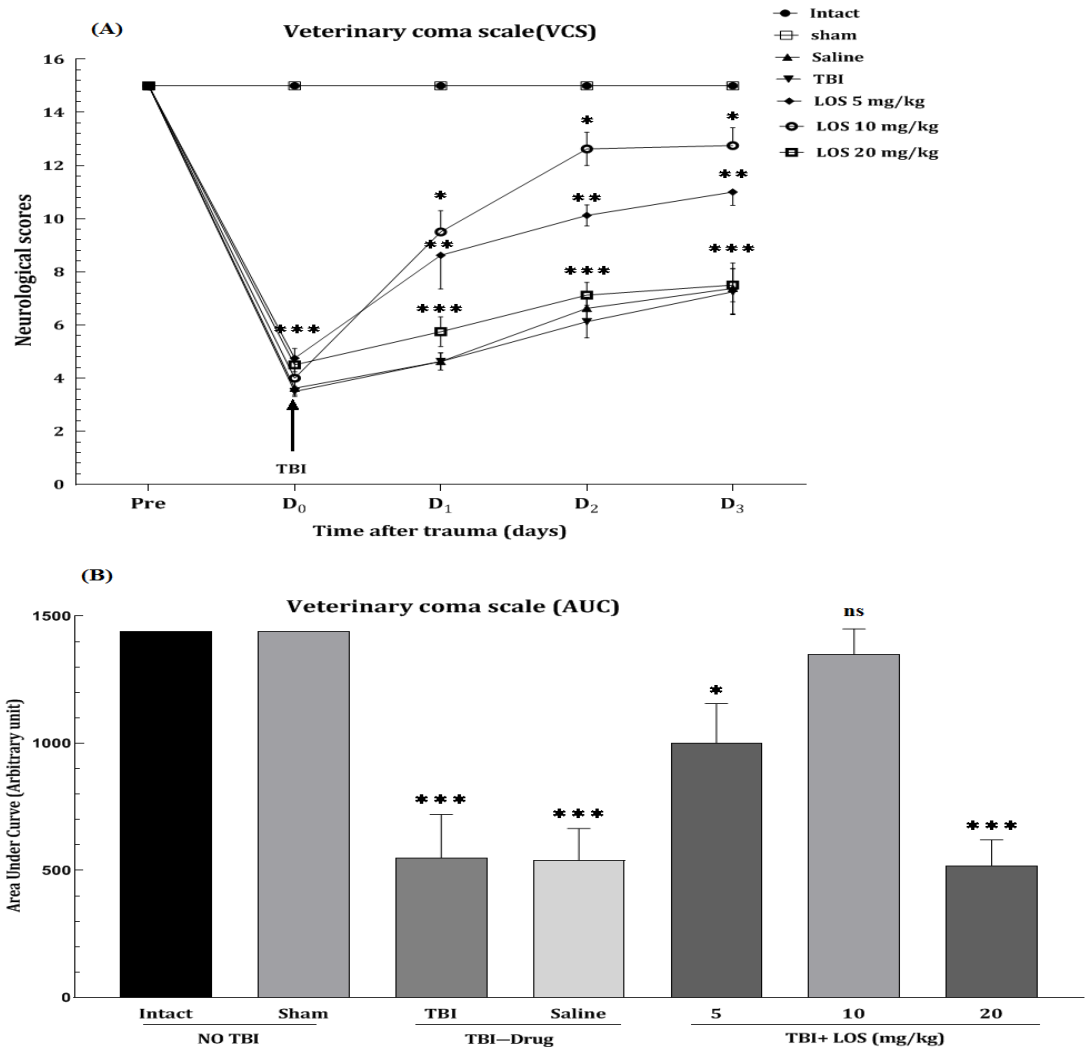
ز. روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین: به این صورت که حیوانات پس از ۷۲ ساعت از ضربه مغزی با تیوپنتال به میزان ۵۰ mg/kg بیهوش شدند. نمونه های مغزی گرفته شده و در محلول بافر ۱۰٪ فرمالین ثابت شدند. برش به وسیله میکروتوم اتوماتیک (Leica, germany) برش های ۵ میکرومتر تهیه شد و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شد. نمونه ها توسط دو پاتولوژیست جداگانه که نسبت به گروه های حیوانی و داروی مصرف شده بی‌اطلاع بودند بررسی شد. برای ارزیابی هر نمونه در هر گروه ۵ نمونه و از هر لام در ۱۰ فیلد مورد بررسی قرار گرفت. میزان ادم نورونی، تورم آستروسیتی، دژنراسیون نورونی و احتقان عروقی از صفر (اندک)، ۱ (خفیف)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید) نمره دهی شدند. این شدت بر اساس بزرگنمایی ۱۰x در زیر میکروسکوپ نوری تعیین شد (۱۸).

تجزیه و تحلیل داده ها: بعد از اینکه نرمالیته داده ها با Shapiro-Wilk's test چک گردید جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروه های مورد مطالعه از آزمون آماری repeated-measure ANOVA استفاده کرده و در آزمون های یک طرفه (One-way ANOVA) post test آن نیومن کولز، در مورد آزمون دوطرفه (Two-way ANOVA) از post test آن یعنی Tukey استفاده شد و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار Prism8 GraphPad انجام شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

یافته ها

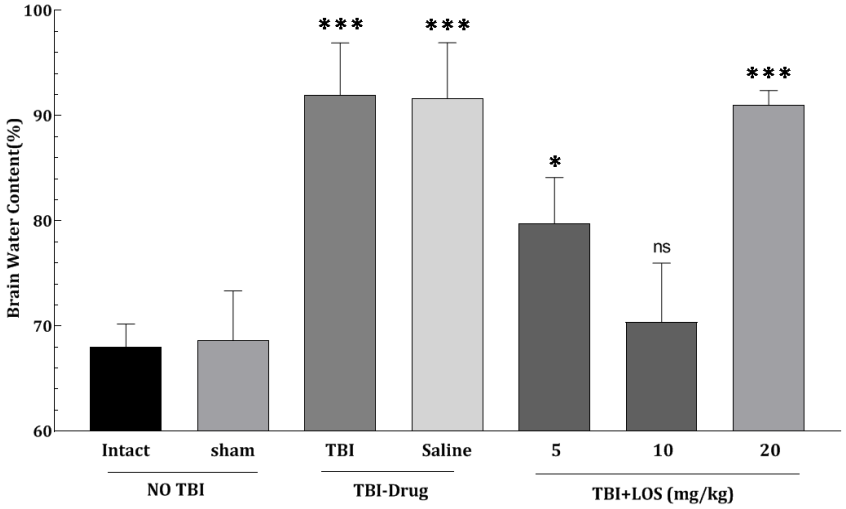
آنالیز آماری repeated-measure ANOVA به همراه تست تعقیبی Tukey نشان داد که ترومای مغزی سبب کاهش نمرات نورولوژیکی در تمامی گروه ها (حدود ۴) نسبت به گروه Intact (نمره ۱۵) و Sham (نمره ۱۵) در زمان D0 گردیده است ($p<۰/۰۰۱$) (نمودار 1A). ولی در روزهای بعد (D_1-D_3) به دنبال تجویز لوزارتان نمرات نورولوژیکی افزایش یافته بطوریکه در انتهای روز سوم (D_3) در گروه دوز ۵ میلی گرم (۱/۴۱±۱۱) و در گروه دوز ۱۰ میلی گرم (۱/۹۰±۱۲/۷۵) به گروه های Intact و Sham نزدیک شده است ($p<۰/۰۰۱$). در گروه دوز ۲۰ میلی گرم در انتهای روز سوم تغییراتی در نمرات نورولوژیکی صورت نگرفته (۱/۷۷±۷/۵) و این گروه با گروه های TBI (۲/۷۲±۷/۳۷) و سالین (۲/۴۳±۷/۲۵) اختلاف معنی داری ندارد. همچنین آنالیز آماری repeated-measure ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داد که گروه های Intact and sham (نمودار 1B) بیشترین مساحت سطح زیر نمودار (AUC) را دارا می باشند (۱۴۰۰). تجویز داخل صفاقی دوزهای ۵ (۴۰±۱۳۵۰) و ۱۰ میلی گرم (۱۵۶±۱۰۰۰) لوزارتان سبب افزایش معنی داری در مقادیر AUC گردیده است ($p<۰/۰۰۱$) ولی در دوز ۲۰ میلی گرم لوزارتان (۱۰۰±۵۲۰) این یافته ها معنی دار نگردید.



نمودار ۱. اثر تجویز لوزارتان در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر روی نمرات نورولوژیکی (A) و مساحت سطح زیر نمودار نمرات نورولوژیکی (B) به دنبال ترومای شدید مغزی. $^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، $^{***}p<۰/۰۰۱$ اختلاف معنی دار تمامی گروه ها نسبت به گروه های sham و Intact. ns= no significant. داده ها به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. در هر گروه ٦ الی ٨ سر موش صحرایی قرار دارد.

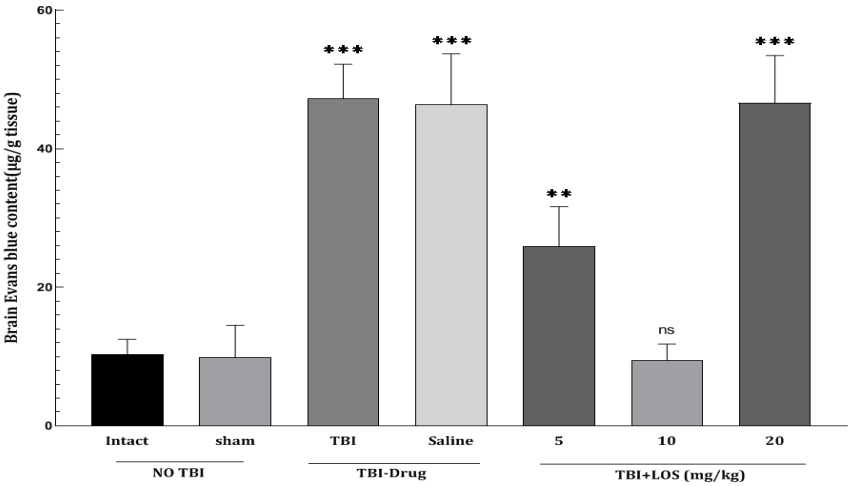
[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داد که ضربه مغزی منجر به افزایش محتوای آب مغزی (۹۲±۵/۲۴) می شود (p<۰/۰۰۱). از سوی دیگر تجویز لوزارتان در گروه دوز ۵ میلی گرم (۷۹/۷۵±۴/۳۶) و گروه دوز ۱۰ میلی گرم (۷۰/۳۷۵±۵/۶۰) توانسته این مقدار افزایش آب مغزی را تا مقدار زیادی کاهش دهد (p<۰/۰۰۱). ولی لوزارتان در دوز ۲۰ میلی گرم (۹۱±۳/۹۲) تاثیری بر میزان محتوای آب مغز نداشته است (نمودار ۲).



نمودار ۲. اثر تجویز لوزارتان در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر میزان محتوای آب مغز بعد از ترومای شدید مغزی شدید. ***p<۰/۰۵، ***p<۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار تمامی گروه ها نسبت به گروه های **sham** و **Intact**. **ns= no significant**. داده ها به صورت **Mean±SD** نمایش داده شده است. در هر گروه ٦ الی ۸ سر موش صحرایی قرار دارد.

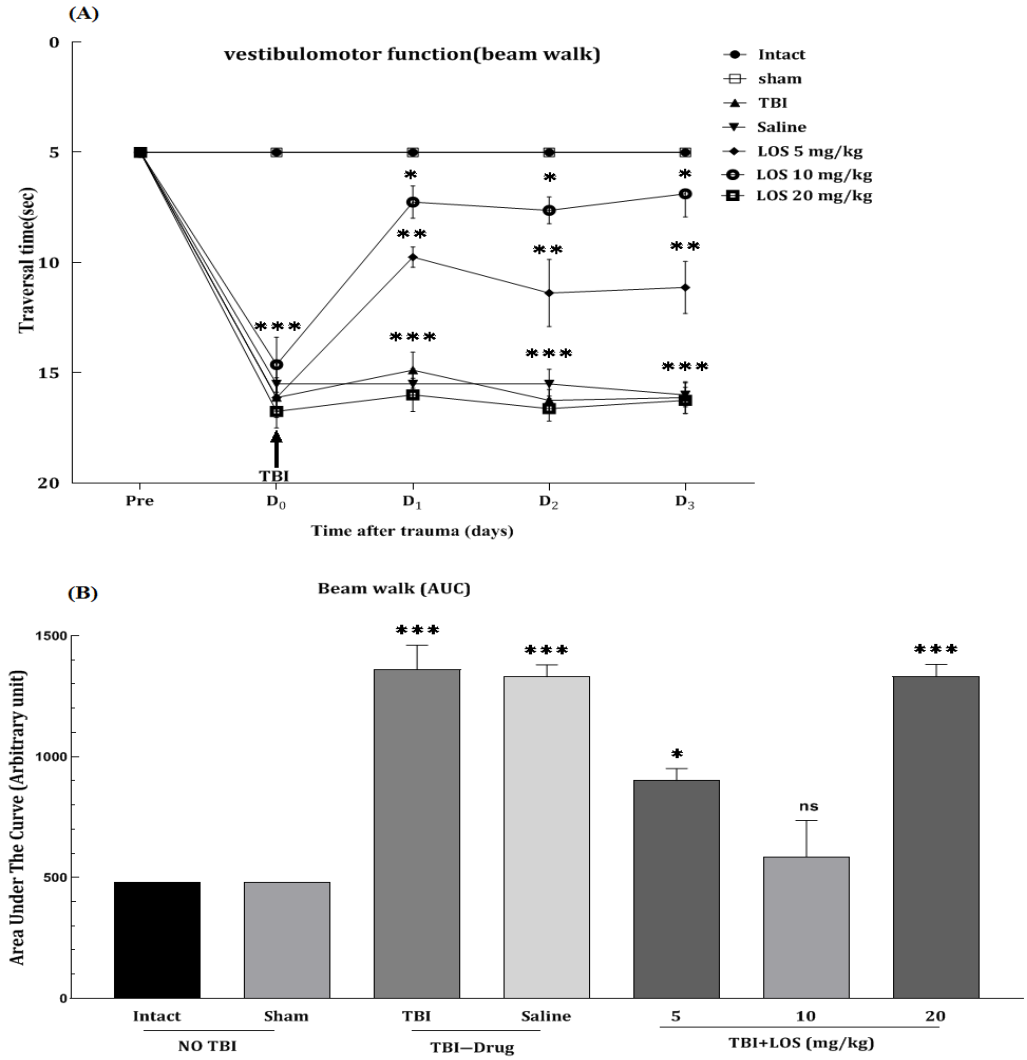
آزمون آماری One-way ANOVA و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داد که ضربه مغزی موجب افزایش میزان محتوای رنگ آبی ایوانز (۴۶/۳۶±۲/۰۸۸) در بافت مغز گردیده است (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۳). لوزارتان در دوزهای موثر (۵ mg/kg و ۱۰ mg/kg) به ترتیب (۹/۴۳±۲/۳۷، ۲۵/۹۲۵±۵/۷۳) موجب کاهش میزان این شاخص یعنی کاهش میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی شده است (p<۰/۰۰۱). ولی در گروه دوز ۲۰ میلی گرم لوزارتان (۴۶/۶۲۵±۶/۸۲۳) تاثیری بر روی سلامت سد خونی مغزی مشاهده نگردیده است.



نمودار ۳. اثر تجویز لوزارتان در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر میزان محتوای رنگ آبی ایوانز در بافت مغز بعد از ترومای شدید مغزی. **p<۰/۰۱، ***p<۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار تمامی گروه ها نسبت به گروه های **sham** و **Intact**. **ns= no significant**. داده ها به صورت **Mean±SD** نمایش داده شده است. در هر گروه ٦ الی ۸ سر موش صحرایی قرار دارد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

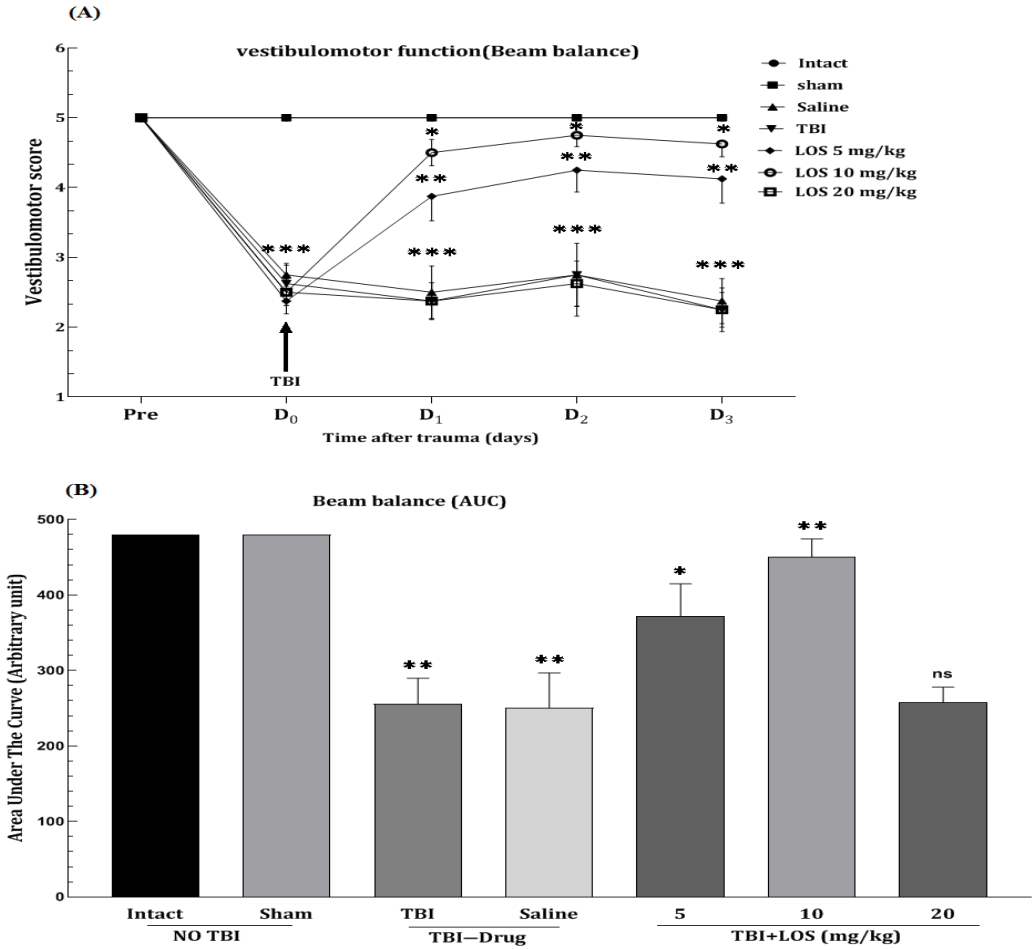
آنالیز آماری repeated-measure ANOVA به همراه تست تعقیبی Tukey نشان داد که ترومای مغزی سبب افزایش مدت زمان عبور حیوان از روی میله beam در تمامی گروه ها (حدود ۱۶) نسبت به گروه Intact (۵ ثانیه) و Sham (۵ ثانیه) در زمان D0 گردیده است (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۴A). ولی در روزهای بعد (D_1-D_3) به دنبال تجویز لوزارتان Traversal time کاهش یافته بطوریکه در انتهای روز سوم (D_3) در گروه دوز ۵ میلی گرم (۱۱/۱۲۵±۳/۳۱۳) و در گروه دوز ۱۰ میلی گرم (۶/۸۷۵±۲/۹۴) به گروه های Intact و Sham نزدیک شده است (p<۰/۰۰۱). در گروه دوز ۲۰ میلی گرم در انتهای روز سوم تغییراتی در Traversal time صورت نگرفته (۱۶/۲۵±۱/۶۶) و این گروه با گروه های TBI (۱۶/۱۲۵±۲/۰۳) و سالین (۱۶±۱/۵۱۱) اختلاف معنی داری ندارد. همچنین آنالیز آماری ANOVA repeated-measure و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داد که گروه های sham و Intact (نمودار ۴B) کمترین مساحت سطح زیر نمودار(AUC= ۴۸۰) را دارا می باشند. ضربه مغزی سبب افزایش (۱۰۰±۱۳۶۱) این مقادیر می گردد (p<۰/۰۰۱). لیکن تجویز دوزهای ۵ (۵۰±۹۰۱) و ۱۰ (۱۵۰±۵۸۵) میلی گرم لوزارتان سبب نزدیکتر شدن مقادیر AUC به مقادیر آن در گروه های sham وIntact گردیده است (p<۰/۰۰۱) ولی در دوز ۲۰ میلی گرم لوزارتان (۵۰±۱۳۳۲) این یافته ها معنی دار نگردید.



نمودار ٤. اثر تجویز لوزارتان در دوزهای ۵، ۱۰و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر روی نمرات شاخص حرکتی beam walk (A) و مساحت سطح زیر نمودار beam walk (B) به دنبال ترومای شدید مغزی. $^{*}p<۰/۰۵$، $^{**}p<۰/۰۱$، $^{***}p<۰/۰۰۱$ اختلاف معنی دار تمامی گروه ها نسبت به گروه های sham و Intact. ns= no significant. داده ها به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. در هر گروه ٦ الی ٨ سر موش صحرایی قرار دارد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

آنالیز آماری Two- way ANOVA تست تعقیبی آن Tukey نشان داده که به محض القاء ضربه مغزی score تعادلی شروع به کاهش کرده (حدود ۰/۳±۲/۵) و در تمام گروه ها نسبت به گروه sham و Intact در روز القاء ضربه مغزی (D0) معنی دار شده است (p<۰/۰۰۱) (نمودار ۵A). اما در روزهای (D1-D3) به دنبال تزریق لوزارتان این نمره تعادلی شروع به افزایش پیدا کرده که در انتهای روز سوم در گروه دوز ۵ میلی گرم (۰/۹۹±۴/۱۲۵) و ۱۰ میلی گرم (۰/۵۱±۴/۶۲۵) لوزارتان سبب افزایش نمرات تعادلی در جهت نزدیک شدن به گروه های Intact (score=۵) و sham (score=۵)گردیده است (p<۰/۰۰۱). بطوریکه با گذشت زمان این اختلاف معنی دار بین گروه های درمانی و گروه های کنترل Intact و sham کاهش یافت (p<۰/۰۵). از طرفی دیگر، در طی روزهای اول تا سوم (D1-D3) پس از ضربه مغزی همانطور که مشاهده می گردد اختلاف بین گروه های لوزارتان با دوز ۵ و ۱۰ میلی گرم با گروه های کنترلی سالین (۰/۹۱±۲/۳۷) و TBI (۰/۸۸±۲/۲۵) رو به روند افزایشی گذاشته (p<۰/۰۰۱) که نشان دهنده وضعیت بهبودی در نمرات تعادلی می باشد ولی در دوز ۲۰ میلی گرم (۰/۷۰±۲/۲۳) اثری مشاهده نگردیده و بین این گروه و گروه های کنترل حلال (saline) و TBI اختلافی وجود ندارد. همچنین آنالیز آماری ANOVA repeated-measure و تست تعقیبی نیومن کولز نشان داده است که گروه های sham و Intact (نمودار ۵B) بیشترین مساحت سطح زیر نمودار (AUC= ۴۸۰) را دارا می باشند. ضربه مغزی سبب کاهش (۳۳/۷۳±۲۵۶) این مقادیر می گردد (p<۰/۰۰۱). لیکن تجویز دوزهای ۵ (۴۳±۳۷۲) و ۱۰ (۲۴/۲۱±۴۵۰) میلی گرم لوزارتان سبب نزدیکتر شدن مقادیر AUC به مقادیر آن در گروه های sham وIntact گردیده است (p<۰/۰۰۱) از طرفی دیگر، در دوز ۲۰ میلی گرم لوزارتان (۲۰±۲۵۸) این یافته ها معنی دار نگردید.

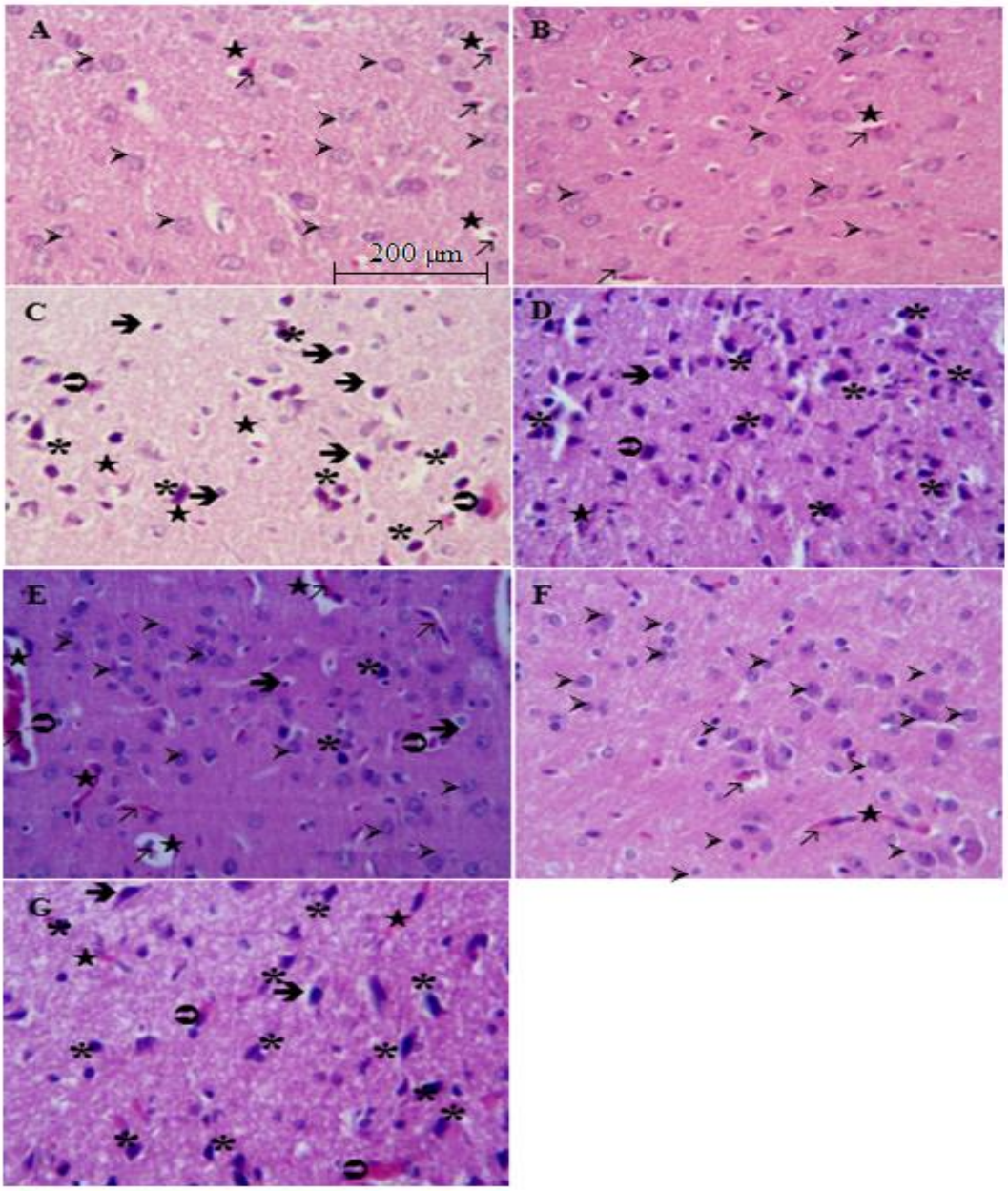


نمودار ۵. اثر تجویز لوزارتان در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر روی نمرات شاخص تعادلی beam balance (A) (بر مدت زمان باقیماندن حیوان روی میله) و مساحت سطح زیر نمودار beam balance (B) به دنبال ترومای شدید مغزی.

***p<۰/۰۵، **p<۰/۰۱، ***p<۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار تمامی گروه ها نسبت به گروه های sham و Intact. ns= no significant. داده ها به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. در هر گروه ٦ الی ٨ سر موش صحرایی قرار دارد.**

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

یافته های هیستولوژیکی: در یافته های هیستولوژیکی در گروه intact و sham، نورون‌های نرمال با هسته وزیکولار بزرگ مرکزی، نورگلیاها و عروق به همراه سلول های اندوتلیال قابل مشاهده هستند (شکل ۱A و ۱B و جدول ۱) اما به دنبال تروما در گروه های TBI و سالین (C ،D) نورون های دژنره شده با هسته چروکیده و به شدت رنگ گرفته به همراه ادم پری‌نورال، احتقان عروقی، ادم پری وسکولار دیده می شوند اما در گروه های تیمار شده با (E ،F) (Losartan 5 and 10 mg/kg) نورون‌های نرمال با هسته وزیکولار بزرگ مرکزی و نورگلیاها دیده می‌شود لیکن در گروه تیمار شده با (G) (Losartan 20 mg/kg) نورون‌های دژنره شده با هسته چروکیده و به شدت رنگ گرفته به همراه ادم پری‌نورال مشاهده می گردد.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپی از قشر مغز موش صحرایی نر. اثرات لوزارتان بر روی تغییرات هیستولوژیکی ۷۲ ساعت بعد از ترومای مغزی(A-G). بزرگنمایی تصویر ×۴۰۰ و رنگ آمیزی H& E می باشد. **Intact (A)، Sham (B)، TBI (C)، (D) سالین، (E) لوزارتان ۵، (F) لوزارتان ۱۰، (G) لوزارتان ۲۰ ✗: نورون نرمال، ❋: نورون دژنره شده، ➔: ادم نورونی، ➲: آستروسیت متورم شده، ★: عروق خونی، ↗: سلول های اندوتلیال.**

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

جدول ۱. اثرات لوزارتان بر روی تغییرات هیستوپاتولوژیکی بر روی برش های قشر مغز موش صحرایی ۷۲ ساعت بعد از TBI

گروه ها	ادم نورونی Mean±SD	تورم آستروسیتی Mean±SD	دژنراسیون نورونی Mean±SD	احتقان عروقی Mean±SD
Intact	۰±۰	۰±۰	۰±۰	۰±۰
Sham	۰±۰	۰±۰	۰±۰	۰±۰
TBI	۲/۳±۰/۶***	۱/۳±۰/۲**	۳/۳±۰/۲***	۱/۳±۰/۴**
Saline	۲/۱±۰/۲***	۱/۵±۰/۳**	۳/۱±۰/۳***	۱/۵±۰/۲**
Los 5	۱/۹±۰/۲**	۰/۹±۰/۱*	۲/۱±۰/۵**	۱/۱±۰/۳**
Los 10	۰/۳±۰/۲*	۰±۰*	۰±۰*	۰/۱±۰/۴*
Los 20	۲/۵±۰/۵***	۱/۶±۰/۴***	۳/۲±۰/۵***	۱/۶±۰/۴***

حیوانات، لوزارتان (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) یا حلال آن را به صورت داخل صفاقی دریافت کرده اند. *p<۰/۰۵، **p<۰/۰۱، ***p<۰/۰۰۱ اختلاف معنی دار تمامی گروه ها نسبت به گروه های sham و Intact.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه نتایج نشان داد که علی‌رغم اینکه ضربه مغزی منجر به افزایش محتوای آب مغزی و به عبارت دیگر باعث ایجاد ادم مغزی می‌شود، داروی لوزارتان می‌تواند باعث کاهش میزان ادم مغزی در روز سوم پس از القای ضربه مغزی شود. در بررسی نتایج حاصل از مطالعه می توان دریافت محتوای آب مغزی در گروهی که لوزارتان با دوز mg/kg ۱۰ دریافت کرده‌اند اختلاف معنی داری با گروه intact و sham ندارند. این بدان معنی می باشد که لوزارتان در دوز ۱۰ میلی گرم اثرات خوبی داشته است و توانست به صورت وابسته به دوز اختلاف خود را با گروه های سالم (کنترل) و شم به حداقل برساند. لوزارتان با دوز mg/kg ۵ نیز توانسته باعث کاهش ادم مغزی در گروهی که این میزان از دارو را دریافت کرده‌اند، شود اما به وضوح میزان این کاهش ادم مغزی در گروه لوزارتان mg/kg ۱۰ بیشتر بود و همچنین محتوای آب مغز در گروه mg/kg ۲۰ با گروه TBI و saline که هیچ دارویی دریافت نکرده‌اند اختلاف معنی داری نداشت یعنی دوز ۲۰ میلی گرم اثری بر روی ضربه مغزی نداشته است و نتوانست تغییری نسبت به دو گروه ترومایی (TBI وsaline) ایجاد نماید که این نشان می دهد این دوز از دارو بر روی ادم مغزی تأثیرگذار نبوده است. یکی از دلایل اینکه دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم لوزارتان نتوانست بر روی شاخص های ادم مغزی اثر گذار باشد این است که احتمالاً با افزایش دوز دارو اثرات نوروتوکسیسیتی دیده می شود و شاید هم دارو در دوز بالا مسیرهای نورودژنراتیو را به راه انداخته و اثرات آگونیستی بر روی گیرنده های نوع ۱ آنژیوتانسین ۲ داشته باشد که این می تواند زمینه تشنج، تخریب سد خونی مغزی و التهاب عصبی را به همراه داشته باشد (۲۸).

Xiong و همکارانش نشان دادند که لوزارتان با دوز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم در موش سبب کاهش حجم ضایعه مغزی، آپوپتوز عصبی و پروتئین استرس می شود. لوزارتان عملکرد عصبی و حرکتی را نیز بهبود می بخشد. لوزارتان بیان پروتئین های اتصال سلول ZO-1 را افزایش داده و ادم مغزی و نشت سد مغزی خون را کاهش می دهد. علاوه بر این، لوزارتان فاکتور ضد التهابی TNF-a را مهار کرده و عامل ضد التهابی IL-10 را بهبود می بخشد. روی هم رفته لوزارتان می تواند پیش آگهی TBI را بهبود بخشد و ممکن است یک روش درمانی امیدوار کننده برای کاهش TBI باشد (۱۰). در مطالعه ما نیز لوزارتان توانست بر روی ادم مغزی و عملکرد تعادلی و حرکتی در beam task موثر واقع شود که احتمالاً بخشی از این اثرات از طریق مسیرهای التهاب نورونی نظیر TGF-β، حتی جلوگیری از، از هم گسیختگی سد خونی- مغزی و میزان پروتئین های ماتریکس متالوپروتئنازها (Matrix Metalloproteinase= MMPs) می باشد که نیاز به بررسی و مطالعه بیشتری دارد (۲۹).

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 موش‌ها شده که نشان‌دهنده افزایش میزان نفوذپذیری سد خونی مغزی می باشد و لوزارتان در دوز (mg/kg ۱۰ و mg/kg ۵) 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 saline اختلاف معنی‌دار داشته و از سوی دیگر با میزان آن در گروه intact و sham اختلاف معنی داری ندارد. دوز mg/kg ۱۰ لوزارتان نسبت به دوز mg/kg ۵ آن در مورد بهبود وضعیت نفوذپذیری سد خونی- مغزی مؤثرتر است. همچنین دوز mg/kg ۲۰ در این مورد نیز مؤثر نبوده و گروهی که این میزان از دارو را دریافت کرده‌اند محتوای رنگ آبی ایوانز در بافت مغزشان اختلاف معنی داری با گروه TBI و saline ندارد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

Friedman و همکاران طی بررسی هایی بر روی حیوانات آزمایشگاهی (موش سوری، موش صحرایی و خوکچه هندی) به این نتیجه رسیدند که در آسیب مغزی که با تورم، تخریب نورون ها، تشنج و به طور کلی با التهاب همراه است، فاکتور هایی مانند TGF-β در مسیر استروسیت، آلبومین موجود در خون و سایر فاکتور های خونی- بافتی، می توانند منجرب آسیب های دائمی به مغز شوند. آنها با تزریق داخل صفاقی لوزارتان به حیوانات مذکور، طی مطالعاتی دریافتند که عواملی اعم از TGF-β در لایه های CA1 و CA2 کاهش پیدا کرده است. همچنین عواملی مانند گلوتامات که در آسیب نورونی یافت می شوند با مصرف لوزارتان کاهش پیدا کرده است. همچنین ترمیم مجدد عروق مغزی باعث بهبود عملکرد شناختی شده و موجب کاهش اختلالات عملکردی ماهیچه های اسکلتی و بالطبع بهبود فعالیت حرکتی شده است. در مطالعات نشان داده شده که لوزارتان باعث فعال شدن سلول های نوروگلیا و کاهش مرگ نورونی و کاهش التهابات مغزی مرتبط با دیابت می شود و در تست های رفتاری موش نتایج مثبتی نیز حاصل شد. این مطالعات همچنین نشان داد که مصرف لوزارتان در موش می تواند باعث کاهش اختلالات سد خونی مغزی و ورود آلبومین شود که منجر به جلوگیری از تشنج در حیوان آزمایشگاهی می گردد. بنابراین می توان گفت طبق آزمایشات انجام شده توسط این گروه، لوزارتان عامل مهمی برای اثرات نوروپروتکتیو محسوب می شود (۳۰). بنابراین بخشی از اثرات نوروپروتکتیو لوزارتان ناشی از اثرات بر فعالیت نورونی (۳۱)، کاهش میزان گلوتامات در فضای سیناپسی و نوروتوکسیسیتی (۳۲) و کاهش مرگ نورونی (۲۲)، کاهش التهاب نورونی مرتبط با دیابت (۳۳)، کاهش تخریب بافت مغز و سد خونی مغزی در سکته های مغزی (۳۴) می باشد.

در مطالعه دیگری که توسط Culman و همکارانش انجام گرفت، مشخص گردید که تجویز داخل وریدی لوزارتان با دوزهای ۳۰ و ۳ میلی گرم بر کیلوگرم در موش های صحرایی ۹۰ دقیقه بعد از ایجاد سکته مغزی به روش بستن شریان مغزی میانی سبب اثرات نوروپروتکتیو مهمی از طریق کاهش فشار خون در حین بهبودی پرفیوژن مغزی و کاهش حجم مایع تراوش شده به داخل بطن مغزی می گردد. این مطالعه هم راستا با پژوهش ما بوده و در این مطالعه نشان داده شد که لوزارتان می تواند اثرات پروتکتیو داشته باشد که بخشی از این اثرات مربوط به جریان خون مغزی می باشد که توسط لوزارتان تعدیل می گردد (۳۵). در مطالعه دیگری Drews و همکارانش نشان دادندکه تجویر اینترانازال لوزارتان با دوز 1μM سبب کاهش پلاک های بتا آمیلوئید در مناطق پیرامون بطن مغزی گردیده همچنین سبب کاهش التهاب مغزی و افزایش نوروژنز در مغز می گردد که همگی دلالت بر نقش نوروپروتکتیو این داروی مسدد گیرنده های آنژیوتانسین دارد (۳۶).

Royea و همکارانش نشان دادند که تجویز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن لوزارتان در موش های آلزایمری سبب بهبودی نقایص کاردیوواسکولار و کاهش پلاک های بتا آمیلوئیدی، بهبودی حافظه فضایی در تست ماز آبی، نوروژنز، کاهش التهاب، کاهش استرس اکسیداتیو گردیده که بیان کننده نقش نوروپروتکتیو لوزارتان بوده که البته از طریق رسپتور نوع ۴ (AT4R) به انجام می رسد (۳۷). این مطالعه در راستای مطالعه ما بوده و ما نیز در دوز ۱۰ میلی گرم جواب بهتری گرفتیم البته در موش صحرایی که احتمالاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو هم لوزارتان عمل می کند که در کار ما سنجش نشده است و در آینده مطالعه بیشتری در TBI نیاز دارد. در این مطالعه، به منظور بررسی عملکرد مغزی پس از ضربه در روزهای پس از ضربه مغزی، در گروه های مختلف مورد مطالعه اطلاعات مربوط به پارامترهای beam task پرداخته شد. نتایج این بررسی نشان داد که گروه‌های saline، TBI و ۲۰ mg/kg لوزارتان در روزهای پس از ضربه حتی در روز سوم پس از ضربه بهبود چشمگیری در نمره تعادلی- حرکتی نداشته‌اند و از سوی دیگر گروه های دریافت کننده لوزارتان در دوزهای ۱۰ mg/kg و ۵ mg/kg در روزهای پس از ضربه توانسته‌اند به سرعت خود را به گروه intact و sham نزدیک کنند و در روز سوم اختلاف معنی داری با این گروه ها نداشتند. بنابراین این ثابت می کند که احتمالاً لوزارتان می تواند سبب بهبود عملکرد شناختی، تعادلی و نورولوژیکی گردد به دلیل اینکه می تواند بر روی التهاب عصبی و همچنین میزان آزاد سازی گلوتامات موثر واقع شود و در بیماری های نورودژنراتیو اثرات محافظتی داشته باشد (۳۹و۳۸).

در این مطالعه، نمره نورولوژیک موش های مورد مطالعه در گروه های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نمره نورولوژیک (VCS) در ۳ روز متوالی نشان داد گروهی که لوزارتان با دوز ۱۰ mg/kg و ۵ دریافت کرده‌اند در تمامی زمان ها بالاترین نمره نورولوژیک را داشته‌اند، در روز سوم نمره نورولوژیک آنها نسبت به سایر گروه ها نزدیک‌تر به گروه intact و sham بوده و همچنین روند افزایش VCS در این گروه سرعت بیشتری نسبت به گروه های دیگر داشته است.

نتایج کلی این مطالعه نشان داد تجویز داروی لوزارتان به عنوان بلوک کننده رسپتور نوع ۱ آنژیوتانسین دو با دوز های ۱۰ mg/kg و ۵ mg/kg موجب بهبودی نشانه های نورولوژیکی شامل بهبود وضعیت عملکرد حرکتی، بهبود وضعیت سد خونی- مغزی و ادم مغزی و همچنین تغییرات خوب هیستولوژیکی در موش هایی که تحت ضربه مغزی قرار گرفتند، شده است. در نتیجه این دارو می‌تواند احتمالاً اثرات محافظتی بر روی نورون ها داشته باشد و همچنین احتمالاً در موارد بالینی آسیب مغزی ناشی از ضربه مؤثر باشد که این امر نیازمند مطالعات بیشتر است.

تضاد منافع: نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچگونه تضاد منافعی وجود ندارد و نویسندگان به تنهایی مسئول محتوا و نگارش این مقاله هستند.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به جهت حمایت مالی از این مطالعه قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

References

1.Peixoto C, Hyland L, Buchanan DM, Langille E, Nahas R. The polytrauma clinical triad in patients with chronic pain after motor vehicle collision. J Pain Res. 2018;11:1927-36.

2.Swan AA, Amuan ME, Morissette SB, Finley EP, Eapen BC, Jaramillo CA, et al. Long-term physical and mental health outcomes associated with traumatic brain injury severity in post-9/11 veterans: A retrospective cohort study. Brain Inj. 2018;32(13-14):1637-50.

3.Bullock MR, Povlishock JT. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. Editor's Commentary. J Neurotrauma. 2007;24 Suppl 1:2 p preceding S1.

4.Kasper D, Fauci A, Longo D, Hauser S, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine (cardiovascular disorders) [Translated by Khodaei M, Tayebi Khameneh P], 19th ed. Tehran: Arjmand pub; 2015.p. 5. [In Persian]

5.Benicky J, Sánchez-Lemus E, Honda M, Pang T, Orecna M, Wang J, et al. Angiotensin II AT 1 receptor blockade ameliorates brain inflammation. Neuropsychopharmacology. 2011;36(4):857-70.

6.Torika N, Asraf K, Apte RN, Fleisher-Berkovich S. Candesartan ameliorates brain inflammation associated with Alzheimer's disease. CNS Neurosci Ther. 2018;24(3):231-42.

7.Bhat SA, Goel R, Shukla S, Shukla R, Hanif K. Angiotensin receptor blockade by inhibiting glial activation promotes hippocampal neurogenesis via activation of Wnt/β-catenin signaling in hypertension. Mol Neurobiol. 2018;55(6):5282-98.

8.Li T, Zhang Y, Zhu B, Wu C, Chen Y. Telmisartan regulates the development of cerebral ischemia by alleviating endoplasmic reticulum stress. Pharmazie. 2018;73(10):585-8.

9.Villapol S, Balarezo MG, Affram K, Saavedra JM, Symes AJ. Neurorestoration after traumatic brain injury through angiotensin II receptor blockage. Brain. 2015;138(Pt 11):3299-315.

10.Xiong J, Gao Y, Li X, Li K, Li Q, Shen J, et al. Losartan Treatment Could Improve the Outcome of TBI Mice. Front Neurol. 2020;11:992.

11.Salmani H, Hosseini M, Beheshti F, Baghcheghi Y, Sadeghnia HR, Soukhtanloo M, et al. Angiotensin receptor blocker, losartan ameliorates neuroinflammation and behavioral consequences of lipopolysaccharide injection. Life Sci. 2018;203:161-170.

12.Wanderer S, Andereggen L, Mrosek J, Kashefiolasl S, Marbacher S, Konczalla J. The Role of Losartan as a Potential Neuroregenerative Pharmacological Agent after Aneurysmal Subarachnoid Haemorrhage. Int J Mol Sci. 2020;21(18):6496.

13.Kalynovska N, Diallo M, Sotakova-Kasparova D, Palecek J. Losartan attenuates neuroinflammation and neuropathic pain in paclitaxel-induced peripheral neuropathy. J Cell Mol Med. 2020;24(14):7949-58.

14.Fernandez LA, Caride VJ, Strömberg C, Näveri L, Wicke JD. Angiotensin AT2 receptor stimulation increases survival in gerbils with abrupt unilateral carotid ligation. J Cardiovasc Pharmacol. 1994;24(6):937-40.

15.Srinivasan J, Jayadev S, Kumaran D, Haja Nazeer Ahamed KF, Suresh B, Ramanathan M. Effect of losartan and enalapril on cognitive deficit caused by Goldblatt induced hypertension. Indian J Exp Biol. 2005;43(3):241-6.

16.Aghaei I, Arjmand S, Yousefzadeh Chabok S, Tondar M, Shabani M. Nitric oxide pathway presumably does not contribute to antianxiety and memory retrieval effects of losartan. Behav Pharmacol. 2017;28(6):420-7.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

17.Liu H, Liu X, Wei X, Chen L, Xiang Y, Yi F, et al. Losartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury via PI3K/Akt-mediated eNOS phosphorylation. Brain Res Bull. 2012;89(1-2):65-70.

18.Rahimi S, Dadfar B, Tavakolian G, Asadi Rad A, 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;176:103-11.

19.Rahimi S, Ferdowsi A, Siahposht-Khachaki A. Neuroprotective effects of metformin on traumatic brain injury in rats is associated with the AMP-activated protein kinase signaling pathway. Metab Brain Dis. 2020;35(7):1135-44.

20.Soltani Z, Shahrokhi N, Karamouzian S, Khaksari M, Mofid B, Nakhaee N, et al. Does progesterone improve outcome in diffuse axonal injury?. Brain Inj. 2017;31(1):16-23.

21.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.

22.Zhang T-L, Fu J-L, Geng Z, Yang J-J, Sun X-J. The neuroprotective effect of losartan through inhibiting AT1/ASK1/MKK4/JNK3 pathway following cerebral I/R in rat hippocampal CA1 region. CNS Neurosci Ther. 2012;18(12):981-7.

23.Kumar A, Singh B, Mishra J, Sah SP, Pottabathini R. Neuroprotective mechanism of losartan and its interaction with nimesulide against chronic fatigue stress. Inflammopharmacology. 2015;23(6):291-305.

24.Kumar A, Loane DJ. Neuroinflammation after traumatic brain injury: opportunities for therapeutic intervention. Brain Behav Immun. 2012;26(8):1191-201.

25.Siahposht khachaki A, Khaksari haddad M, Shahrokhi Sardo 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. [In Persian]

26.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):1080-9.

27.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;247:410-8.

28.Bar-Klein G, Cacheaux LP, Kamintsky L, Prager O, Weissberg I, Schoknecht K, et al. Losartan prevents acquired epilepsy via TGF-β signaling suppression. Ann Neurol. 2014;75(6):864-75.

29.Min L-J, Mogi M, Shudou M, Jing F, Tsukuda K, Ohshima K, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ activation with angiotensin II type 1 receptor blockade is pivotal for the prevention of blood-brain barrier impairment and cognitive decline in type 2 diabetic mice. Hypertension. 2012;59(5):1079-88.

30.Friedman A, Bar-Klein G, Serlin Y, Parmet Y, Heinemann U, Kaufer D. Should losartan be administered following brain injury?. Expert Rev Neurother. 2014;14(12):1365-75.

31.Palkovits M, Šebeková K, Klenovics KS, Kebis A, Fazeli G, Bahner U, et al. Neuronal activation in the central nervous system of rats in the initial stage of chronic kidney disease-modulatory effects of losartan and moxonidine. PLoS One. 2013;8(6):e66543.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]

32.Wang J, Pang T, Hafko R, Benicky J, Sanchez-Lemus E, Saavedra JM. Telmisartan ameliorates glutamate-induced neurotoxicity: roles of AT(1) receptor blockade and PPARγ activation. Neuropharmacology. 2014;79:249-61.
33.Vargas R, Rincón J, Pedreañez A, Viera N, Hernández-Fonseca JP, Peña C, et al. Role of angiotensin II in the brain inflammatory events during experimental diabetes in rats. Brain Res. 2012;1453:64-76.
34.Smeda JS, Daneshtalab N. The effects of poststroke captopril and losartan treatment on cerebral blood flow autoregulation in SHRsp with hemorrhagic stroke. J Cereb Blood Flow Metab. 2011;31(2):476-85.
35.Culman J, Jacob T, Schuster SO, Brolund-Spaether K, Brolund L, Cascorbi I, et al. Neuroprotective effects of AT1 receptor antagonists after experimental ischemic stroke: what is important?. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2017;390(9):949-59.
36.Drews HJ, Yenkoyan K, Lourhmati A, Buadze M, Kabisch D, Verleysdonk S, et al. Intranasal losartan decreases perivascular beta amyloid, inflammation, and the decline of neurogenesis in hypertensive rats. Neurotherapeutics. 2019;16(3):725-40.
37.Royea J, Zhang L, Tong X-K, Hamel E. Angiotensin IV receptors mediate the cognitive and cerebrovascular benefits of losartan in a mouse model of Alzheimer's disease. J Neurosci. 2017;37(22):5562-73.
38.Wanderer S, Grüter BE, Strange F, Sivanrupan S, Di Santo S, Widmer HR, et al. The Role of Sartans in the Treatment of Stroke and Subarachnoid Hemorrhage: A Narrative Review of Preclinical and Clinical Studies. Brain Sci. 2020;10(3):153.
39.Salmani H, Hosseini M, Baghcheghi Y, Moradi-Marjaneh R, Mokhtari-Zaer A. Losartan modulates brain inflammation and improves mood disorders and memory impairment induced by innate immune activation: The role of PPAR-γ activation. Cytokine. 2020;125:154860.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1401.24.1.38.4]
[DOI: 10.22088/jbums.24.1.305]