Original Article

Effect of Oral Administration of S-allyl Cysteine (the Active Ingredient in the Aged Garlic Extract) on the Symptoms of Multiple Sclerosis in the Experimental Model

Hossein Zeinali[1*], Tourandokht Baluch Nejad Mojarad[2], Mehrdad Roghani[3]

[1] *Department of Physiology, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.*

[2] *Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

[3] *Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran.*

***Corresponding Author:**
Hossein Zeinali;
Department of Physiology, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

Email:
hzeinali53@gmail.com,
hzeinali@muq.ac.ir

Received: 09 Oct, 2020
Accepted: 23 Jan, 2021

Abstract

Background and Objectives: Autoimmune inflammation of the central nervous system followed by myelin destruction, oxidative stress, and reduced neuroprotective factors play key roles in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS). S-allyl cysteine (SAC), an active ingredient in the aged garlic extract, has known anti-inflammatory and neuroprotective effects. Therefore, this study aimed to investigate the anti-inflammatory and neuroprotective effects of S-allyl cysteine and related mechanisms in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE, a validated animal model of MS).

Methods: C57BL/6 mice were divided into the following three groups, with each group comprising of ten animals: Group 1: Control, Group 2: EAE induction, and Group 3: EAE induction and daily administration of SAC (EAE+SAC). The EAE induction was performed using the Hooke kit. It should be noted that daily gavage of SAC was carried out and clinical score (severity of tail and limbs paralysis) was assessed daily. The inflammation of the lumbar spinal cord was measured through hematoxylin and eosin staining. Moreover, tumor necrosis factor α (TNF-α) level in spinal cord and serum; Interleukin-17(IL-17, Inflammatory factors) level in spinal cord; Activity-dependent neuroprotector homeobox (ADNP), and Microtubule-associated Proteins 1A/1B Light Chain 3A (MAP1LC3A, neuroprotective factors) were measured using ELISA. The data were analyzed using a one-way analysis of variance.

Results: The daily administration of SAC significantly reduced the score of clinical paralysis on days 13 to 18 following EAE induction (from $P<0.05$ to $P<0.01$). It also significantly reduced spinal cord inflammation ($P<0.01$), elevated levels of TNFα in serum and spinal cord, and IL-17 in the spinal cord ($P<0.05$). On the other hand, daily administration of SAC elevated the reduced spinal cord levels of ADNP and MAP1LC3A ($P<0.05$).

Conclusion: Daily oral administration of SAC improved MS symptoms through the reduction of spinal inflammation and inflammatory factors, and elevation of neuroprotective factors. In addition, SAC can be utilized in the prevention and treatment of MS due to its herbal origin.

Keywords: Autoimmune diseases; Inflammation; Multiple Sclerosis; Neuroprotective agents; S-allyl cysteine.

DOI: 10.29252/qums.14.10.76

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره چهاردهم، شماره دهم، دی ۹۹
صفحه ۷۶ الی ۸۴

مقاله پژوهشی
(Original Article)

اثر تجویز خوراکی اس-آلیل‌سیستئین (ماده فعال در عصاره سیر کهنه) بر علائم مولتیپل اسکلروزیس در مدل تجربی

حسین زینلی[۱*]، توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد[۲]، مهرداد روغنی[۳]

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

[۲] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

[۳] مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
حسین زینلی؛ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
hzeinali53@gmail.com,
hzeinali@muq.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

چکیده

زمینه و هدف: التهاب خودایمنی سیستم اعصاب مرکزی و به دنبال آن تخریب میلین به همراه استرس اکسیداتیو و کاهش عوامل حفاظت نورونی، نقشی کلیدی را در پاتوژنز بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS: Multiple sclerosis) ایفا می‌کنند. اس-آلیل‌سیستئین (SAC: *S-Allylcysteine*) ماده مؤثر موجود در سیر کهنه دارای اثرات ضد التهابی و محافظ نورونی شناخته شده می‌باشد. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ضد التهابی و محافظ نورونی اس-آلیل‌سیستئین و مکانیسم‌های مربوطه در مدل EAE (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis) (مدل حیوانی معتبر بیماری MS) انجام شد.

روش بررسی: موش‌های C57BL/6 به سه گروه ۱۰ تایی کنترل، القای مدل (EAE) و القای مدل و تجویز روزانه اس-آلیل‌سیستئین (EAE+SAC) تقسیم شدند. القای مدل EAE با استفاده از کیت Hooke انجام شد. اس-آلیل‌سیستئین به صورت روزانه گاواژ گردید. همچنین نمره بالینی (شدت فلج دم و اندام) روزانه بررسی شد. میزان التهاب نخاع کمری با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E: Hematoxylin & Eosin)، سطوح نخاعی و سرمی TNFa (Tumor necrosis factor alpha)، سطوح نخاعی IL-17 (Interleukin 17) (فاکتورهای التهابی)، ADNP (Activity Dependent Neuroprotector Homeobox) و MAP1LC3A (Microtubule-associated Proteins 1A/1B Light Chain 3A) (فاکتورهای محافظ نورونی) با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری گردید. بررسی آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

یافته‌ها: تجویز روزانه SAC به صورت خوراکی باعث کاهش معنادار نمره فلج بالینی در روزهای ۱۳ تا ۱۸ پس از القای EAE شد (P<۰/۰۵ تا P<۰/۰۱). همچنین باعث کاهش معنادار التهاب نخاع (P<۰/۰۱) و سطوح افزایش‌یافته TNFa در سرم و نخاع و IL-17 در نخاع گردید (P<۰/۰۵). در مقابل، سطوح نخاعی کاهش‌یافته ADNP و MAP1LC3A را افزایش داد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی روزانه اس-آلیل‌سیستئین از طریق کاهش التهاب نخاعی و فاکتورهای التهابی و همچنین افزایش فاکتورهای محافظ نورونی توانست باعث بهبود علائم MS شود. اس-آلیل‌سیستئین با توجه به اساس گیاهی آن می‌تواند در پیشگیری و درمان MS مورد استفاده قرار بگیرد.

کلیدواژه‌ها: التهاب؛ اس-آلیل‌سیستئین؛ بیماری‌های خودایمنی؛ عوامل محافظ نورونی؛ مولتیپل اسکلروزیس.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Zeinali H, Baluch Nejad Mojarad T, Roghani M. Effect of Oral Administration of S-allyl Cysteine (the Active Ingredient in the Aged Garlic Extract) on the Symptoms of Multiple Sclerosis in the Experimental Model. Qom Univ Med Sci J 2020;14(10):76-84. [Full Text in Persian]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

MS یک بیماری التهابی خودایمنی و نورودژنراتیو در سیستم اعصاب مرکزی با اتیولوژی تقریباً ناشناخته می‌باشد (۵-۱). بیش از دو و نیم میلیون نفر در سراسر جهان مبتلا به این بیماری هستند و این بیماری در زنان شایع‌تر از مردان است (۶،۷). اختلالات نورولوژیک ایجاد شده در MS ناشی از التهاب ادامه‌دار، تخریب میلین، نقص در بازسازی میلین و تخریب نورون‌ها می‌باشد. بازسازی میلین به عنوان یک مکانیسم ترمیمی به صورت طبیعی در بیماران مبتلا به MS آغاز می‌شود؛ اما در اغلب موارد ناتمام می‌ماند (۸،۹). استرس اکسیداتیو هم در فاز التهابی و هم در تخریب آکسون‌ها و نورون‌ها در فاز پیشرفته بیماری نقش دارد (۱۰)؛ بنابراین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند نقش مؤثری را در پیشگیری از این بیماری ایفا کنند و در درمان بیماری در فاز حاد و پیشرفته، نقش مکملی داشته باشند. امروزه استفاده از مواد استخراج شده از ترکیبات طبیعی و گیاهی برای درمان بیماری‌های التهابی و بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی رو به گسترش بوده و اثبات اثرات پیشگیری و درمانی آن‌ها در مقابل داروهای شیمیایی نیاز به مطالعات بیشتری دارد (۱۱). اس-آلیل‌سیستئین (SAC) ماده مؤثر موجود در عصاره سیر کهنه با خواص ضد التهابی، ضد آپوپتوز و آنتی‌اکسیدانی بوده و اثرات نوروپروتکتیو نیز دارد (۱۱). در مطالعات متعدد، اثرات آنتی‌اکسیدانی SAC در مدل‌های مختلف آزمایشگاهی نشان داده شده است (۱۲). در مطالعات صورت‌گرفته، SAC با مکانیسم‌های متنوع اثرات ضد التهابی و تعدیل‌کننده ایمنی داشته است (۱۱)؛ بنابراین می‌توان گفت از آنجایی که SAC دارای اثرات ضد التهابی داروهای رایج در درمان بیماری MS و نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظ نورونی بوده و با توجه به اینکه در سیر کهنه (که بخش مهمی از رژیم غذایی افراد است) به مقدار فراوان یافت می‌شود، می‌تواند گزینه مطلوبی برای پیشگیری و درمان بیماری MS باشد. مدل EAE یک مدل معتبر حیوانی در تحقیقات MS است که بسیاری از ویژگی‌های پاتوفیزیولوژیک MS در انسان را بازتولید می‌کند. EAE یک وضعیت پیچیده حاصل از برهم‌کنش مکانیسم‌های متنوع ایمونوپاتولوژیک و نوروپاتولوژیک است که شرایط مشابه MS در انسان شامل: التهاب، تخریب میلین، از دست رفتن آکسون‌ها و گلیوزیس را ایجاد می‌کند. این مدل دارای نوروفارماکولوژی پیچیده بوده و بسیاری از داروهای مورد استفاده در MS در حال حاضر با استفاده از مدل EAE موررد تحقیق و بررسی قرار گرفته و جواز استفاده دریافت کرده‌اند (۱۳). با توجه به مطالب بیان شده، در پژوهش حاضر سعی شد اثرات ضد التهابی و محافظ نورونی و در مجموع، اثر آن بر علائم بالینی MS متعاقب تجویز خوراکی اس-آلیل‌سیستئین در مدل EAE مورد برسی قرار گیرد.

روش بررسی

در این پژوهش از موش‌های کوچک (mice) ماده نژاد C57BL/6 به تعداد ۳۰ سر با وزن تقریبی ۲۲-۲۰ گرم (حدود ۱۲ هفته) استفاده شد. موش‌ها در شرایط کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش در اتاق حیوانات در مرکز تحقیقات دانشگاه شاهد از یک هفته قبل از شروع آزمایش نگهداری شدند. در این مطالعه حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه ده تایی شامل: گروه‌های کنترل (موش‌های دست‌نخورده)، EAE (القای مدل EAE) و القای مدل و تیمار با SAC (EAE+SAC) تقسیم شدند. القای EAE با استفاده از کیت آماده Hooke (USA، MA، Lawrence، EK-0115 ، Hooke laboratories) با تزریق زیرجلدی ۰/۲ میلی‌لیتر (۰/۱ میلی‌لیتر در هر flank) امولسیون MOG35-55 (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) در CFA (Complete freund's adjuvant) در روز القای مدل (روز صفر) و سپس تزریق داخل صفاقی سم Pertussis (۰/۱ میلی‌لیتر امولسیون تهیه شده) در همان روز و ۲۴ ساعت بعد براساس پروتکل شرکت فوق انجام شد (۱۴). براساس مطالعات گذشته (۱۵) و اهداف مطالعه حاضر، محلول داروی SAC در نرمال سالین به صورت خوراکی به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز با ظهور علائم نورولوژیک بیماری در موش‌ها تا زمان پایان آزمایشات نورولوژیک و نمونه‌گیری خونی و بافتی (۱۸ روز پس از القای مدل EAE) گاواژ گردید. برای بررسی علائم رفتاری و نورولوژیک بیماری، موش‌ها به صورت روزانه براساس مقیاس زیر مورد بررسی دقیق قرار گرفتند: عدم وجود نشانه فلج (نمره صفر)، فلج ناقص دم (نمره ۰/۵)، فلج کامل دم

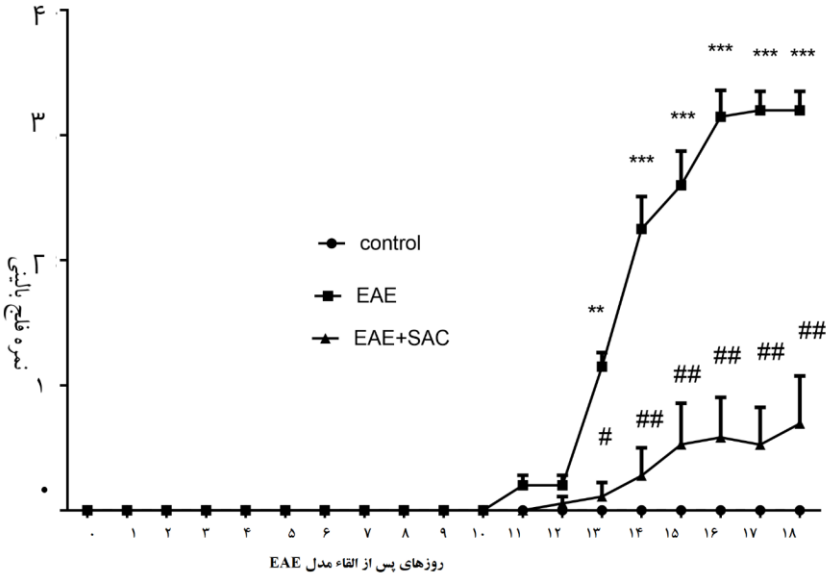
International License Creative Commons Attribution License 4.0

(نمره ۱)، فلج کامل دم و تغییر در گام برداشتن اندام حرکتی عقب (نمره ۱/۵)، فلج کامل دم و ضعف در اندام حرکتی عقب (نمره ۲)، فلج یک‌طرفه اندام حرکتی عقب (نمره ۲/۵)، فلج دوطرفه اندام حرکتی عقب (نمره ۳)، فلج دوطرفه اندام حرکتی عقب و ضعف اندام حرکتی جلو (نمره ۳/۵)، فلج کامل (نمره ۴) و بی‌حرکتی کامل رو به موت یا مرگ موش (نمره ۵). ۱۸ روز پس از تزریق MOG، بعد از انجام آخرین آزمون رفتاری، موش‌ها توسط کتامین (۱۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم) کاملاً بیهوش شدند و پس از باز کردن جدار قدامی شکم، عضله دیافراگم به آرامی و دقت برداشته شد، قلب در دسترس قرار گرفت و اقدامات زیر به ترتیب انجام شد: از بطن راست تمام موش‌ها با وارد کردن یک سوزن ۲۲G حدود نیم سی‌سی خون گرفته شد و برای استخراج سرم در لوله‌های لخته ریخته شد. سپس سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت و سرم تهیه شده درون میکروتیوب برای انجام آزمایشات بعدی، ابتدا به فریزری با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و سپس به فریزری با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. پس از خونگیری، چهار موش در هر گروه ابتدا با ۱۰ سی‌سی از محلول PBS (Phosphate- Buffered Saline) هپارینه (پس از ورود مستقیم یک سوزن ۲۰G به داخل بطن چپ و برش دهلیز راست) پرفیوز شدند. این کار با ۲۰ سی‌سی پارافرمالدهید ۴ درصد ادامه پیدا می‌کرد. در ادامه، نخاع موش‌ها به دقت خارج شد و تا هنگام تهیه بلاک‌های پارافینی درون محلول Post fix قرار گرفت. فرایند تولید بلاک‌های پارافینی نخاع (آب‌گیری، آغشته‌سازی و قالب‌گیری) براساس پروتکل‌های موجود انجام شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم روتاری (مدل Medite)، مقاطعی با ضخامت ۷ میکرون تهیه گردید. به منظور بررسی میزان التهاب و ارتشاح سلول‌های التهابی در نخاع کمری، لام‌های تهیه شده از قطعات نخاع با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند و بر مبنای روش نیمه عددی (۱۶)، نمره التهاب در نخاع کمری محاسبه گردید (انتخاب تصادفی چهار مقطع غیر پشت سر هم نخاع و نمره‌دهی بر این اساس: بدون ارتشاح، حفره و رنگ‌پذیری کامل: نمره صفر؛ حدود ۲۵ درصد از حداکثر ارتشاح، حفره‌ها و رنگ‌پذیری: نمره ۱؛ حدود ۵۰ درصد از حداکثر ارتشاح، حفره‌ها و رنگ‌پذیری: نمره ۲؛ حدود ۷۵ درصد از حداکثر ارتشاح، حفره‌ها و رنگ‌پذیری: نمره ۳؛ حداکثر ارتشاح، حفره‌ها و حداقل رنگ‌پذیری: نمره ۴). سطح سرمی و نخاعی TNFa و سطح نخاعی IL-17 به عنوان شاخص‌های التهابی و ایمنی و همچنین سطح نخاعی ADNP (Activity Dependent Neuroprotective Homeobox) و MAP1LC3A (Microtubule-associated Proteins 1A/1B Light Chain 3A) به عنوان فاکتورهای محافظ نورونی با بهره‌گیری از روش الایزای ساندویچ با استفاد از کیت (Sigma-Aldrich ،St Louis MO ،USA) اندازه‌گیری گردید. کلیه داده‌ها به شرط توزیع نرمال به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه نمره فلج بالینی بین گروه‌ها در روزهای مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه با اندازه‌گیری مکرر استفاده گردید. آنالیز سایر نتایج با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه انجام شد و در صورت معنادار بودن، مقایسه دو به دو گروه‌ها توسط پس‌آزمون Tukey صورت گرفت. مقدار (P<۰/۰۵) نیز به عنوان سطح معناداری تلقی گردید. بدیهی است اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی براساس مقررات کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران (تهران) رعایت شد. در این راستا برای القای EAE یا نمونه‌برداری، حیوانات به طور کامل بیهوش شدند و سعی گردید تا حد امکان از حیوانات کمتری برای این کار تحقیقاتی استفاده شود. شایان ذکر است که تمامی حیوانات در حالت بیهوشی عمیق با کتامین، تحت جراحی، خون‌گیری از قلب و خروج بافت نخاع قرار گرفتند.

یافته‌ها

براساس نتایج مطالعات رفتاری و بررسی علائم نورولوژیک در این مطالعه (شکل ۱)، القای EAE در موش‌های کوچک نژاد C57BL/6 باعث افزایش معنادار نمره فلج بالینی در گروه EAE در مقایسه با گروه کنترل در روز ۱۳ پس از القای EAE (P<۰/۰۱) شد و تا روز ۱۸ پس از القا (روز پایانی بررسی رفتاری و نمونه‌گیری) با رقم معناداری بیشتری (P<۰/۰۰۱) ادامه پیدا کرد. تجویز خوراکی SAC به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز بلافاصله با شروع علائم فلج (حدود روز ۱۰ بعد از القا) تا

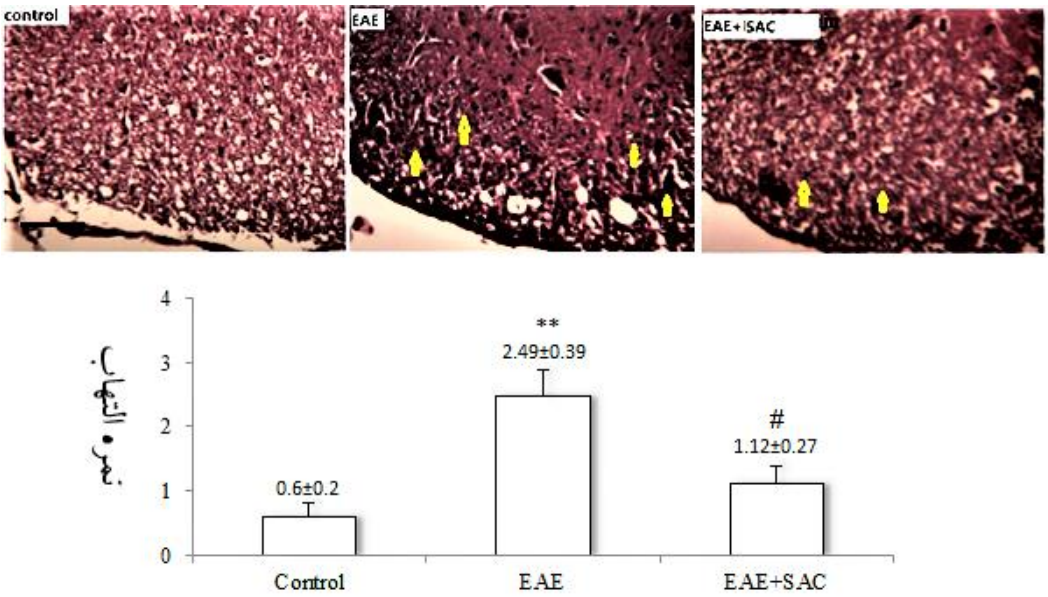
International License Creative Commons Attribution License 4.0



شکل شماره ۱: مقایسه نمره فلج بالینی ام اس در گروه EAE در مقایسه با گروه کنترل (*) و در گروه تیمار خوراکی با اس آلیل سیستئین به محض شروع علایم EAE (EAE+SAC) تا روز پایان آزمایش (#) (آزمون واریانس با اندازه گیری مکرر، تعداد ۱۰ موش در هر گروه، **: P < ۰/۰۱، ***: P < ۰/۰۰۱، #: P < ۰/۰۵، ##: P < ۰/۰۱).

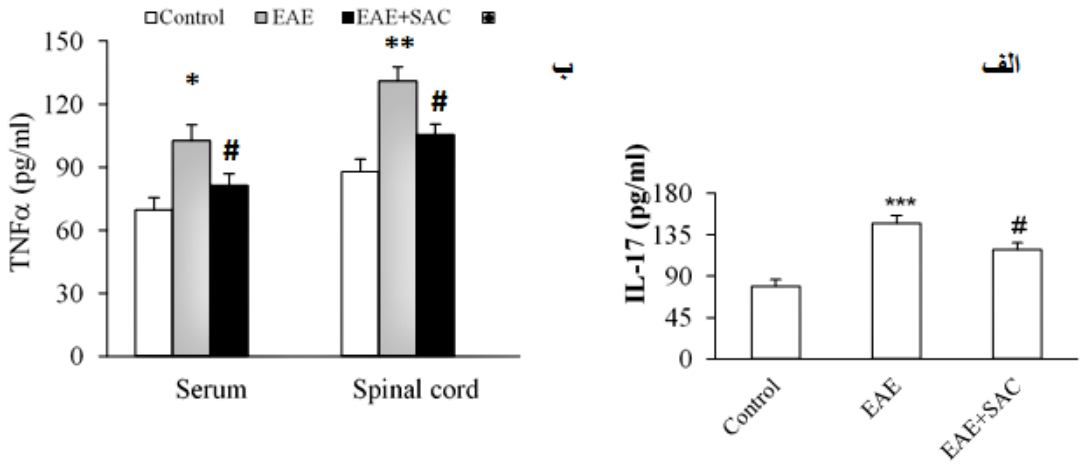
روز پایانی آزمایشات نورولوژیک (روز ۱۸) در گروه EAE+SAC، نمره فلج بالینی را از روز ۱۳ (P<۰/۰۵) تا روز ۱۸ (P<۰/۰۱) به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه EAE کاهش داد.

به منظور بررسی مکانیسم عملکرد SAC در کاهش علائم نورولوژیک، میزان التهاب نخاع کمری مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲). براساس نتایج به دست آمده، القای EAE باعث افزایش معنادار نمره التهاب نخاع در مقایسه با گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تجویز خوراکی و روزانه SAC به محض شروع علائم تا روز پایانی آزمایشات نورولوژیک و نمونه‌برداری (روز ۱۸ پس



شکل شماره ۲: نمره التهاب نخاع با استفاده از رنگ آمیزی H&E در گروه EAE در مقایسه با گروه کنترل (*) و در گروه تیمار با اس آلیل سیستئین (EAE+SAC) در مقایسه با گروه EAE (#) (آزمون واریانس یکطرفه، تعداد ٤ موش در هر گروه، **: P < ۰/۰۱، #: P < ۰/۰۵)

International License Creative Commons Attribution License 4.0

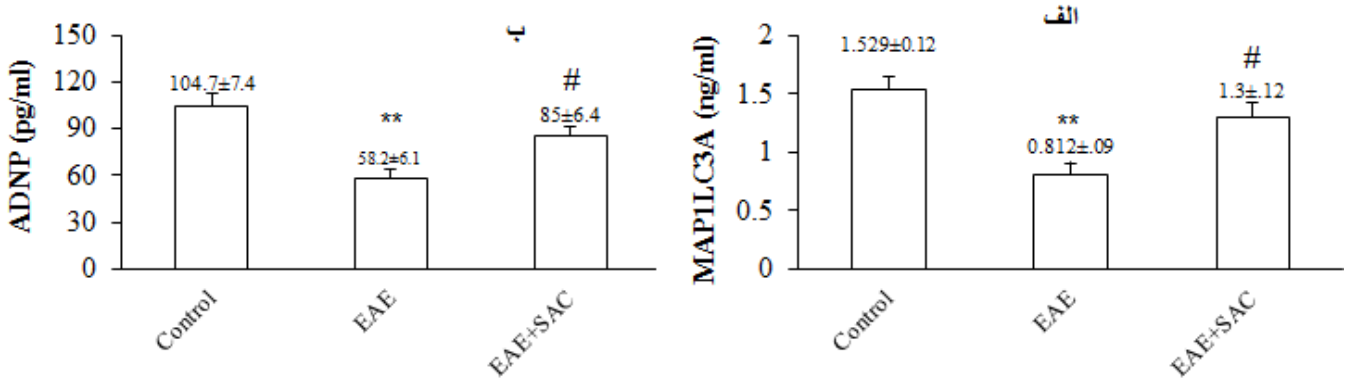


شکل شماره ۳: سطح نخاعی و سرمی TNFa (ب) و سطح نخاعی IL-17 (الف) در گروه EAE در مقایسه با گروه کنترل (*) و در گروه تیمار با اس آلیل سیستئین (EAE+SAC) در مقایسه با گروه EAE (#) (آزمون واریانس یکطرفه، تعداد ٦ موش در هر گروه **: P < ۰/۰۱، ***: P < ۰/۰۰۱، #: P < ۰/۰۵)

از القای مدل) باعث کاهش نمره التهاب نخاع در گروه EAE+SAC در مقایسه با گروه EAE گردید (P<۰/۰۵).

علاوه بر بررسی التهاب نخاع کمری، سطح نخاعی و سرمی TNFa (شکل ۳-ب) و سطح نخاعی IL-17 (شکل ۳-الف) به عنوان فاکتورهای ایمنی و التهابی مورد بررسی قرار گرفتند. القای EAE، سطح سرمی (P<۰/۰۵) و نخاعی (P<۰/۰۱) TNFa و همچنین سطح نخاعی IL-17 (P<۰/۰۵) را به طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد. در مقابل، تیمار با SAC به طور قابل ملاحظه‌ای سطح افزایش‌یافته سرمی و نخاعی TNFa و سطح نخاعی IL-17 را در مقایسه با گروه EAE کاهش داد (P<۰/۰۵).

به منظور بررسی اثرات محافظ نورونی SAC، سطح نخاعی پروتئین محافظ نورونی وابسته به فعالیت (ADNP) و همچنین سطح نخاعی پروتئین وابسته به میکروتوبول MAP1LC3A به عنوان یک شاخص اتوفاژی مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۴). القای EAE، سطح نخاعی ADNP و MAP1LC3A را به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد (P<۰/۰۱). در مقابل تجویز خوراکی روزانه SAC، سطح نخاعی MAP1LC3A و ADNP را در مقایسه با گروه EAE به طور معناداری افزایش بخشید (P<۰/۰۵).



شکل شماره ٤: سطح نخاعی MAP1LC3A (الف) و ADNP (ب) در گروه EAE در مقایسه با گروه کنترل (*) و در گروه تیمار با اس آلیل سیستئین (EAE+SAC) در مقایسه با گروه EAE (#) (آزمون واریانس یکطرفه، تعداد ٦ موش در هر گروه، **: ۰/۰۱ > P، #: P < ۰/۰۵).

International License Creative Commons Attribution License 4.0

بحث

بیماری MS معمولاً با التهاب خودایمنی سیستم اعصاب مرکزی و تخریب میلین آغاز شده و با بازسازی ناتمام میلین ادامه می‌یابد (۱۷). فاز حاد MS با عبور لوکوسیت‌ها از سد عروق خونی به بافت سفید مغز، التهاب میلین و حذف موضعی آن و ایجاد پلاک‌های موضعی در ناحیه آسیب‌دیده سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌شود (۴). در مطالعه حاضر تجویز روزانه SAC بلافاصله با شروع علائم فلج ناشی از القای EAE تا زمان پایان آزمایشات نورولوژیک و نمونه‌گیری توانست همان‌گونه که انتظار می‌رفت، به طور مؤثری از گسترش فلج پیشرونده در این مدل حیوانی جلوگیری کند. این مهم با نتایج مطالعات پیشین همخوانی دارد (۱۸). به منظور بررسی مکانیسم‌های سلولی- مولکولی اثر SAC، میزان التهاب نخاع و انفیلتراسیون سلول‌های التهابی در نخاع مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، SAC میزان انفیلتراسیون سلول‌های التهابی و شدت التهاب نخاع را به صورت قابل ملاحظه‌ای کاهش داد که این نتایج به طور کامل با یافته‌های مطالعات پیشین که اثر ضد التهابی و تعدیل‌کننده ایمنی SAC را نشان داده بودند، همسو است. در یک مطالعه مروری، اثر ضد التهابی SAC با مکانیسم‌های متنوع به ویژه با مهار مسیر التهابی NF-ΚB (Nuclear Factor kappa B) در کنار اثرات آنتی‌اکسیدانی آن مورد تأیید قرار گرفت (۱۱). SAC در مطالعه حاضر همسو با نتایج هیستوپاتولوژیک باعث کاهش سطح سرمی و بافتی TNFa و IL-17 به عنوان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی شناخته شده و دخیل در پاتوژنز MS گردید. این نتایج با یافته‌های مطالعات پیشین که اثر SAC در کاهش آسیب نورون‌ها از طریق کاهش التهاب و کاهش تولید TNFa را نشان دادند، همسویی دارد (۱۹). در مورد اثر SAC به صورت اختصاصی بر IL-17، موردی در منابع موجود یافت نشد؛ اما در مطالعات پیشین اثر SAC بر کاهش تولید برخی از سایتوکاین‌های التهابی نشان داده شده است (۲۰). همان‌گونه که در مطالعه حاضر نشان داده شد و با توجه به مطالعات پیشین، نقش IL-17 در پاتوژنز MS کاملاً محرز است (۲۱،۲۲)؛ بنابراین می‌توان گفت یکی از مکانیسم‌های SAC، کاهش شدت التهاب نخاع از طریق کاهش انفیلتراسیون سلول‌های التهابی و ایمنی به درون بافت نخاع می‌باشد. کاهش تولید سایتوکاین‌های التهابی یکی دیگر از مکانیسم‌های SAC برای کاهش التهاب نخاع و تعدیل واکنش‌های ایمنی که منجر به بهبود علائم نورولوژیک EAE می‌شوند، می‌باشد.

در این مطالعه برای بررسی اثرات محافظ نورونی SAC، سطح نخاعی فاکتور محافظ نورونی ADNP (۲۳،۲۴) و سطح نخاعی MAP1LC3A به عنوان شاخص اتوفاژی (۲۵) که در محافظت از سلول‌ها نقش دارد، اندازه‌گیری شد. کاهش اتوفاژی به عنوان یکی از عوامل آسیب به نورون‌ها گزارش شده است (۲۶). در مطالعه حاضر، القای EAE سطح نخاعی ADNP و MAP1LC3A را به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش داد؛ اما تجویز روزانه و خوراکی SAC، سطح نخاعی این دو فاکتور را به طور مؤثری افزایش بخشید؛ بنابراین می‌توان گفت سطح نخاعی این دو فاکتور کاملاً با شدت و ضعف علائم EAE و در نتیجه بیماری MS در ارتباط است و می‌توان از این دو فاکتور به عنوان بیومارکرهای بالقوه و جدید در MS نام برد. اندازه‌گیری این دو فاکتور در مایع مغزی نخاعی و پلاسمای خون در مطالعات آینده توصیه می‌شود. اندازه‌گیری این دو فاکتور و ارتباط آن با EAE و MS در مطالعه حاضر بسیار جدید بود و خوشبختانه نتایج به دست آمده از تأیید پیش‌بینی ما در مورد نقش این دو فاکتور در پاتوژنز MS حکایت دارد. با توجه به این نتایج می‌توان گفت حداقل بخشی از بهبود علائم EAE توسط SAC در این مطالعه به واسطه اثرات محافظ نورونی SAC به دست آمده است. این نتایج به طور کامل با یافته‌های مطالعات پیشین که در آن‌ها اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی SAC تأیید شده است، همراستا می‌باشد (۱۱،۱۲).

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت SAC به عنوان ماده مؤثری که به وفور در عصاره سیر کهنه وجود داشته و به صورت طبیعی در رژیم غذایی افراد یافت می‌شود و جذب خوراکی و طول اثر بالایی دارد (۱۱)، اثرات ضد التهابی و محافظ نورونی مؤثری در پیشگیری و درمان MS دارد و می‌تواند در کنار داروهای مرسوم MS مورد استفاده قرار بگیرد.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از رساله دکتری (Ph.D.) فیزیولوژی پزشکی دفاع شده در دانشگاه علوم پزشکی ایران می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه مذکور به شماره ۲۶۹۴۲-۳۰-۰۴-۹۴ طی سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۷ در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شاهد تهران انجام شده است. بدین‌وسیله از تمامی عزیزانی که در راستای انجام این پژوهش با پژوهشگران همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد. نویسندگان اعلام می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در این کار تحقیقاتی وجود ندارد.

References:

1. Bittner S, Afzali AM, Wiendl H, Meuth SG. Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG35-55) induced experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in C57BL/6 mice. J Vis Exp 2014;86:e51275. DOI: 10.3791/51275

2. Grau-Lopez L, Granada ML, Raich-Regue D, Naranjo-Gomez M, Borras-Serres FE, Martinez-Caceres E, et al. Regulatory role of vitamin D in T-cell reactivity against myelin peptides in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. BMC Neurol 2012;12:103. DOI: 10.1186/1471-2377-12-103

3. Kotelnikova E, Bernardo-Faura M, Silberberg G, Kiani NA, Messinis D, Melas IN, et al. Signaling networks in MS: a systems-based approach to developing new pharmacological therapies. Mult Scler 2014;21(2):138-46. DOI: 10.1177/1352458514543339

4. Lassmann H, van Horssen J. The molecular basis of neurodegeneration in multiple sclerosis. FEBS Lett 2011;585(23):3715-23. DOI: 10.1016/j.febslet.2011.08.004

5. Zeinali H, Baluchnejadmojarad T, Fallah S, Sedighi M, Moradi N, Roghani M. S-allyl cysteine improves clinical and neuropathological features of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. Biomed Pharmacother 2018;97:557-63. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.155

6. Disanto G, Ramagopalan SV. On the sex ratio of multiple sclerosis. Mult Scler 2013;19(1):3-4. DOI: 10.1177/1352458512447594

7. Raphael I, Webb J, Stuve O, Haskins W, Forsthuber T. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis: how far we have come and how they could affect the clinic now and in the future. Expert Rev Clin Immunol 2015;11(1):69-91. DOI: 10.1586/1744666X.2015.991315

8. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet 2008;372(9648):1502-17. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61620-7

9. Nadeem M, Sklover L, Sloane JA. Targeting remyelination treatment for multiple sclerosis. World J Neurol 2015;5(1):5-16. Link

10. Gonsette RE. Neurodegeneration in multiple sclerosis: the role of oxidative stress and excitotoxicity. J Neurol Sci 2008;274(1-2):48-53. DOI: 10.1016/j.jns.2008.06.029

11. Colin-Gonzalez AL, Ali SF, Tunez I, Santamaria A. On the antioxidant, neuroprotective and anti-inflammatory properties of S-allyl cysteine: an update. Neurochem Int 2015;89:83-91. DOI: 10.1016/j.neuint.2015.06.011

12. Colin-Gonzalez AL, Santana RA, Silva-Islas CA, Chanez-Cardenas ME, Santamaria A, Maldonado PD. The antioxidant mechanisms underlying the aged garlic extract- and S-allylcysteine-induced protection. Oxid Med Cell Longev 2012;2012:907162. DOI: 10.1155/2012/907162

13. Constantinescu CS, Farooqi N, O'Brien K, Gran B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). Br J Pharmacol 2011;164(4):1079-106. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01302.x

14. Rahimi A, Faizi M, Talebi F, Noorbakhsh F, Kahrizi F, Naderi N. Interaction between the protective effects of cannabidiol and palmitoylethanolamide in experimental model of multiple sclerosis in C57BL/6 mice. Neuroscience 2015;290:279-87. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.030

International License Creative Commons Attribution License 4.0

15. Bayraktar O, Tekin N, Aydin O, Akyuz F, Musmul A, Burukoglu D. Effects of S-allyl cysteine on lung and liver tissue in a rat model of lipopolysaccharide-induced sepsis. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2015;388(3):327-35 .DOI: 10.1007/s00210-014-1076-z

16. Zhang F, Yang J, Jiang H, Han S. An αvβ3 integrin-binding peptide ameliorates symptoms of chronic progressive experimental autoimmune encephalomyelitis by alleviating neuroinflammatory responses in mice. J Neuroimmune Pharmacol 2014;9(3):399-412. DOI: 10.1007/s11481-014-9532-6

17. Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti CF. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. Brain Pathol 2007;17(2):210-8. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2007.00064.x

18. Escribano BM, Luque E, Aguilar-Luque M, Feijoo M, Caballero-Villarraso J, Torres LA, et al. Dose-dependent S-allyl cysteine ameliorates multiple sclerosis disease-related pathology by reducing oxidative stress and biomarkers of dysbiosis in experimental autoimmune encephalomyelitis. Eur J Pharmacol 2017;815:266-73. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.09.025

19. Garcia E, Santana-Martinez R, Silva-Islas CA, Colin-Gonzalez AL, Galvan-Arzate S, Heras Y, et al. S-allyl cysteine protects against MPTP-induced striatal and nigral oxidative neurotoxicity in mice: participation of Nrf2. Free Radic Res 2014;48(2):159-67. DOI: 10.3109/10715762.2013.857019

20. Gong Z, Ye H, Huo Y, Wang L, Huang Y, Huang M, et al. S-allyl-cysteine attenuates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats by targeting STAT3/SMAD3 pathway. Am J Transl Res 2018;10(5):1337-46. Link

21. Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. J Immunol 2006;177(1):566-73. DOI: 10.4049/jimmunol.177.1.566

22. Kuwabara T, Ishikawa F, Kondo M, Kakiuchi T. The role of IL-17 and related cytokines in inflammatory autoimmune diseases. Mediators Inflamm 2017;2017:3908061. DOI: 10.1155/2017/3908061

23. Gozes I. Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP): from autism to Alzheimer's disease. Springerplus 2015;4(Suppl 1):L37. DOI: 10.1186/2193-1801-4-S1-L37

24. Oz S, Ivashko-Pachima Y, Gozes I. The ADNP derived peptide, NAP modulates the tubulin pool: implication for neurotrophic and neuroprotective activities. PloS One 2012;7(12):e51458. DOI: 10.1371/journal.pone.0051458

25. Cheng X, Wang Y, Gong Y, Li F, Guo Y, Hu S, et al. Structural basis of FYCO1 and MAP1LC3A interaction reveals a novel binding mode for Atg8-family proteins. Autophagy 2016;12(8):1330-9. DOI: 10.1080/15548627.2016.1185590

26. Feng X, Hou H, Zou Y, Guo L. Defective autophagy is associated with neuronal injury in a mouse model of multiple sclerosis. Bosn J Basic Med Sci 2017;17(2):95-103. DOI: 10.17305/bjbms.2017.1696

International License Creative Commons Attribution License 4.0