پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال هفدهم، شماره ۲، پی در پی ۸۶، صفحات ۶۷ تا ۷۲
خرداد و تیر ۱۳۹۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۲۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۵/۱۷

بررسی تأثیر دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون بر سطح لیپیدهای بافت مغزی و نفوذپذیری سد خونی- مغزی در مدل سکته مغزی موش صحرایی

زهرا ربیعی[1]، دکتر محمدرضا بیگدلی[2*]، فاطمه محققی[3]، دکتر بهرام رسولیان[4]، ابوالقاسم شریفی[5]

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲. استادیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
۳. کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی
۴. استادیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
۵. کارشناس ارشد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات اخیر پیشنهاد می‌کنند که عصاره برگ زیتون باعث سرکوب التهاب و کاهش آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو می‌شود. با توجه به اهمیت ایسکمی و خونرسانی مجدد مغزی، در این تحقیق اثر سه غلظت عصاره برگ زیتون (در مقایسه با گروه شاهد) بر میزان نفوذپذیری سد خونی-مغزی و سطح لیپیدهای بافت مغزی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: این تحقیق به صورت تجربی روی ۵ گروه ۱۲ تایی موش صحرایی نر از نژاد ویستار انجام شد. گروه شاهد آب مقطر دریافت کردند در حالیکه سه گروه تیمار، عصاره برگ زیتون را از طریق گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت کردند (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ mg/kg). برای گروه شم تیمار و القای ایسکمی صورت نگرفت. دو ساعت بعد از آخرین دوز گاواژ شده، هر گروه اصلی به دو زیرگروه شامل ۶ موش صحرایی تقسیم گردید. در زیرگروه اول شریان مغزی میانی بسته شد و در آنها مدل‌سازی سکته مغزی کانونی انجام شد، و میزان نفوذپذیری سد خونی-مغزی از طریق اندازه‌گیری میزان جذب نوری اوانس بلو در بافت مغزی بررسی شد. زیرگروه دوم به صورت دست نخورده باقی ماند و برای آنالیز لیپیدهای مغزی از طریق کروماتوگرافی لایه نازک به کار رفت. سپس نتایج با آنالیز واریانس مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: سطح کلسترول مغزی در گروه عصاره ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ mg/kg، به ترتیب ۴/۷±۳۴/۴، ۵/۸±۳۵/۹، ۲/۱±۸۳/۳ (میلی‌گرم بر گرم وزن بافت مغز) و سطح کلسترول استر مغزی به ترتیب برابر با ۱/۸±۱۵/۲، ۳/۱±۱۵/۸، ۳/۶±۱۶/۳ (میلی‌گرم بر گرم وزن بافت مغز) بود که در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود. سطح تری‌گلیسرید مغزی در گروه عصاره با دوزهای ۷۵ و mg/kg ۱۰۰ برابر با ۰/۵±۳۴/۱ و ۱/۱±۳۴/۵ (میلی‌گرم بر گرم وزن بافت مغز) بود که در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود. کاهش نفوذپذیری سد خونی-مغزی در گروههای عصاره با دوز ۷۵ و ۱۰۰، در برابر گروه شاهد، از لحاظ آماری معنی‌دار بود (در هر دو مورد: $p< ۰/۰۰۱$). در ضمن بین نیمکره‌های راست و چپ در گروههای شاهد و گروه دوز ۵۰ اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p<۰/۰۰۱$)، اما بین نیمکره‌های راست و چپ در گروههای تیمار شده با دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که عصاره برگ زیتون با تغییر در سطح لیپیدهای مغزی و کاهش نفوذپذیری مغزی در مدل ایسکمی-خونرسانی مجدد موش صحرایی، اثر محافظت عصبی داشته باشد. کارهای بیشتری نیاز است تا این مشاهدات را گسترش دهد.

واژگان کلیدی: زیتون، عصاره برگ زیتون، محافظت عصبی، سکته مغزی، لیپیدهای مغزی، موش صحرایی نژاد ویستار

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Rabiei Z, Bigdeli MR, Mohagheghi F. The effect of various doses of olive leaf extract on brain lipid levels and blood brain barrier permeability in rat stroke model. Pejouhandeh 2012;17(2):67-72.

مقدمه

سکته مغزی سومین عامل مرگ و میر و ناتوانی در کشورهای صنعتی است و در صورت زنده ماندن عوارضی چون فلج ناحیه‌ای از بدن و مشکلاتی در حافظه، فکر کردن، حرف زدن و حرکت کردن را به وجود می آورد (۱). ۱۵٪ سکته‌ها به علت هموراژی و ۸۵٪ به علت ایسکمی است. ایسکمی در اثر عواملی چون ترمبوز و آمبولی و کاهش خونرسانی سیستمیک به وجود می‌آید (۱). واقعه اصلی در طی ایسکمی مغزی، تولید

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر محمدرضا بیگدلی؛ تهران، بزرگراه چمران، ولنجک، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی؛ تلفن: ۲۹۹۰۲۷۳۱-۲۱-۹۸+؛ فاکس: ۲۲۳۴۱۶۶۴-۲۱-۹۸+؛ پست الکترونیک: bigdelimohammadreza@yahoo.com

رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی است که به خاطر واکنش‌پذیری بالایشان سبب آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسید دزوکسی ریبونوکلئیک شده و مرگ نورونی را باعث می‌شوند. آنها ضمناً در شکستن سد خونی- مغزی و ایجاد ادم مغزی نقش دارند (۲). فعال‌سازی فسفولیپازها به دنبال ایسکمی مغزی باعث آزادسازی پیام‌رسانهای ثانویه لیپیدی، ۱ و ۲ دی آسیل گلیسرول، فسفاتیدیک اسید، لیزوفسفاتیدیک اسید، دکوزا هگزانوئیک اسید و آراشیدونیک اسید می‌شود. آراشیدونیک اسید توسط سیکلواکسیژناز/ لیپوکسیژناز برای تولید سیگنالینگ‌های مهم دچار متابولیسم بیشتر می‌شود (۳).

متابولیسم لیپیدی ممکن است اهمیت ویژه‌ای برای سیستم عصبی داشته باشد و این عضو دومین عضو بدن است که غلظت بالای لیپیدها را دارد. بسیاری از اختلالات عصبی شامل اختلالات دو قطبی (bipolar)، شیزوفرنی و بیماریهای تحلیل عصبی نظیر آلزایمر، پارکینسون و بیماری نیمن پیک به دلیل تغییر در متابولیسم لیپیدی مغز بوجود می‌آیند. پدیده‌های متعددی در طی ایسکمی و خونرسانی مجدد دیده می‌شود که شامل آسیب به لیپیدهای غشا مخصوصاً به صورت لیپولیز در طی ایسکمی و پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده وابسته به رادیکال‌ها در طی خونرسانی مجدد است (۴).

رژیم غذایی مدیترانه شامل مصرف بالای محصولات زیتون است. محصولات زیتون منبع غنی از پلی‌فنول‌ها نظیر اولئوروپین و مشتقات آن شامل هیدروکسی تیروزول که رادیکال‌های آزاد را جمع می‌کند و از اکسیداسیون شیمیایی LDL جلوگیری می‌کند، می‌باشد (۵ و ۶). میوه زیتون و برگهای درخت آن به دلیل اینکه ترکیبات فنولی بسیاری دارند نقش مهمی در پزشکی و درمان بیماریها ایفا نموده‌اند. پیش‌تغذیه با عصاره برگ زیتون با دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ mg/kg باعث کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی می‌شود و این اثر در پایینترین دوز عصاره برگ زیتون یعنی ۵۰ mg/kg دیده نمی‌شود (۷). در این مطالعه تغییر سطح کلسترول، کلسترول استر و تری‌گلیسرید بافت مغزی در اثر تغذیه با عصاره برگ زیتون و تغییر نفوذپذیری سد خونی-مغزی در مدل سکته مغزی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

این تحقیق به روش تجربی انجام شد. موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم از پژوهشکده علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی خریداری شده و در دوره دوازده ساعته تاریکی- روشنایی در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد با غذای استاندارد موشهای صحرایی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران نگهداری شدند. آماده‌سازی OLE (*Olea europae*، واریته Sevillano) که میزان اولئوروپین آن ۳۰٪ است، توسط مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی (لرستان، ایران) انجام شد. پودر OLE قبل از استفاده در آب مقطر حل شد.

موشهای صحرایی به ۵ گروه اصلی تقسیم شدند که هر کدام شامل ۱۲ حیوان بود. ۳ گروه آزمایشی به مدت ۳۰ روز در ساعت ۱۲-۱۱، عصاره برگ زیتون را به صورت خوراکی و از طریق گاواژ، با دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ mg/kg دریافت کردند. گروه کنترل آب مقطر دریافت کرد و در گروه شم تیمار و القای ایسکمی صورت نگرفت. دو ساعت بعد از آخرین تیمار، هر گروه اصلی به دو زیرگروه (n= ۶) تقسیم شد. در زیرگروه اول یا MCAO، شریان میانی مغزی بسته شد و القای ایسکمی صورت گرفت. این موشهای صحرایی برای اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی از طریق اندازه‌گیری جذب نوری اوانس بلو در بافت مغز به کار رفتند. زیرگروه دوم به صورت دست‌نخورده باقی ماند و برای آنالیز لیپیدهای مغزی از طریق کروماتوگرافی لایه نازک به کار رفت. دوزهای انتخابی بر اساس مطالعات انجام شده قبلی بود (۸).

ایجاد مدل سکته مغزی (انسداد شریان مرکزی مغز)

موشهای صحرایی بعد از توزین، با ۴۰۰ mg/kg داروی کلرات هیدرات (مرک، آلمان) بیهوش شدند. جراحی مدل‌سازی انسداد شریان میانی مغز مطابق دستورالعمل لونگا و همکاران انجام شد (۹). به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون ۰-۳ از طریق تنه شریان کاروتیدی خارجی (ECA) وارد رگ شریانی راست شد و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی (ACA) از میان شریان کاروتیدی داخلی (ICA) با پتریگوپالاتین بسته نخ به سمت جلو ادامه داده می‌شد. در اثر تماس نخ بخیه و ACA، جریان خون از هر طرف به MCA بسته می‌شد. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰ میلی‌متر از طول نخ از تنه ECA مشخص می‌شد. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت می‌گرفت. دمای بدن از طریق رکتوم با کمک دماسنج دیجیتالی (Geratherm color, Germany) اندازه‌گیری می‌شد و در حدود ۳۷ درجه سلسیوس حفظ می‌شد.

اندازه‌گیری نفوذپذیری سد خونی- مغزی

استحکام سد خونی- مغزی توسط اندازه‌گیری میزان خروج اوانس بلو (EB) ارزیابی شد. نخست، موشهای صحرایی از طریق ورید دم، محلول اوانس بلوی ۲٪ را به اندازه ml/kg ۴ بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد از جریان مجدد خون، موشهای صحرایی تحت بیهوشی از ناحیه قفسه سینه باز شدند و با ml ۲۵۰ سالین از طریق بطن چپ از وجود اوانس بلو داخل رگی پاک شدند (تا زمانی که مایع پرفیوز بی‌رنگ از دهلیز راست خارج شود). سپس، مغز خارج شد. برای اندازه‌گیری میزان خروج EB، بافت مغز در ml ۲/۵ بافر فسفات هموژن شده و برای رسوب پروتئین به آن ml ۲/۵ اسید تری کلرواستیک ۶۰٪ اضافه شد. سپس ۳ دقیقه با ورتکس به هم زده شد و ۳۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد خنک شد. آنگاه به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در نهایت، جذب نوری اوانس بلو در بخش رویی توسط اسپکتوفتومتر (Perkin-Elmer امریکا) در جذب ۶۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مطابق منحنی استاندارد غلظت آن محاسبه گردید (۱۰).

جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی لیپیدها

در پایان روز سی‌ام، تمام موشهای صحرایی از طریق تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات با دوز mg/kg ۸۰۰ کشته شدند و بعد از جدا کردن سرشان، مغزشان به سرعت خارج شد. سپس نیمکره راست مغز از سایر قسمتهای مغز مثل نیمکره چپ و مخچه و پل مغزی جدا شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای آنالیزهای لیپیدی نگهداری گردید. نمونه مغزی با ml ۵ کلروفورم و متانول با حجم ۱ به ۱ و ml ۰/۵ آب مقطر روی مگنتیک استیرر در دمای اتاق به مدت حداقل ۸ ساعت گذاشته شد؛ با این روش کل لیپیدها از بافت مغزی جداسازی شدند. بعد از ۸ ساعت نمونه از روی استیرر برداشته شده و به مدت ۱۰ دقیقه با دور g۱۲۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس سوپرناتانت برداشته شده و رسوب باقیمانده و ظرفی که مغز در آن هموژن شده، با ml ۲ کلروفورم و متانول با حجم ۱ به ۱ شسته شده و دوباره سانتریفیوژ شد. سپس سوپرناتانت برداشته شده و با سوپرناتانت اولی ترکیب شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای جداسازی و خالص‌سازی و شناسایی لیپیدها نگهداری گردید. جداسازی لیپیدها با استفاده از ستون کروماتوگرافی DEAE - sephadex انجام شد. بعد از آماده‌سازی، ستون دو بار با حلال A که شامل کلروفورم: متانول: آب با حجم ۸:۶۰:۳۰ است شسته شد و لیپیدهای خنثی در حلال A جمع‌آوری شد که اینها شامل کلسترول و کلسترول استر و تری‌گلیسرید است (۱۱).

کروماتوگرافی لایه نازک با کارآیی بالا HPTLC

لیپیدها بر روی پلیت ۱۰× ۲۰ سیلیکاژل HPTLC ۶۰ (مرک، آلمان) با استفاده از دستگاه HPTLC مدل camag – linomat auto TLC – spotter نقطه‌گذاری گردید. بعد از اتمام نقطه‌گذاری، پلیت‌ها در بافری که شامل کلروفرم: متانول: استیک اسید: فرمیک اسید (با حجم ۶۵:۳۵:۲:۱) بود غوطه‌ور شد تا بافر تا ارتفاع ۴/۵ سانتی‌متری پلیت بالا رود. سپس از بافر خارج شده و خشک شد و در بافر دوم که شامل هگزان: دی ایزوپروپیل اتر: استیک اسید (با حجم ۶۵:۳۵:۲) غوطه‌ور شد تا بافر تا ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری پلیت حرکت کند و لیپیدها بر روی باندهای جدا در پلیت قرار گیرند. لیپیدهای خنثی روی پلیت با استفاده از معرف کوپریک استات ۳٪ در محلول ۸٪ فسفریک اسید به دنبال حرارت دادن در آون با دمای ۱۷۰-۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه ظاهر شدند و سپس پلیت‌ها توسط دستگاه اسکنر در طول موج ۳۵۰ نانومتر اسکن گردید (۱۲).

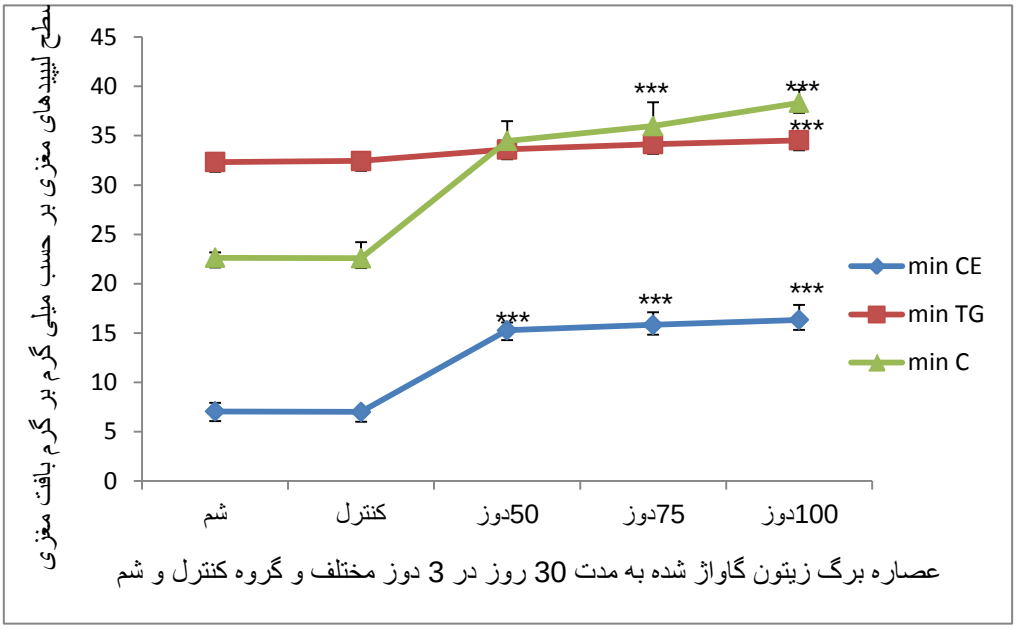
آنالیزهای آماری

تمام آنالیزها با کمک نرم افزار SPSS V.16.0 انجام شد. نفوذپذیری سد خونی- مغزی و سطح کلسترول، کلسترول استر و تری‌گلیسرید مغزی با استفاده از آزمون ONE WAY ANOVA و متعاقب آن مقایسات چندگانه روش مقایسه میانگینها به روش LSD انجام شد. $p< ۰/۰۵$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تحقیق بر روی ۶۰ سر موش صحرایی نر و در ۵ گروه ۱۲ تایی انجام گرفت. میزان شاخصهای سطح لیپیدهای مغزی به تفکیک گروههای مورد و مکان در نمودار شماره ۱ ارائه شده که نشان می‌دهد که سطح کلسترول مغزی در گروه عصاره ۵۰، ۷۵ و mg/kg ۱۰۰، به ترتیب ۳۴/۴±۴/۷، ۳۵/۹±۵/۸، ۸۳/۳±۲/۱ (میلی‌گرم بر گرم وزن بافت مغز) و سطح کلسترول استر مغزی در آنها به ترتیب برابر با ۱۵/۲±۱/۸، ۱۵/۸±۳/۱، ۱۶/۳±۳/۶ (میلی‌گرم بر گرم وزن بافت مغز) بود که در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود ($p< ۰/۰۵$). سطح تری‌گلیسرید مغزی در گروه عصاره با دوزهای ۷۵ و

mg/kg ۱۰۰ برابر با ۰/۵±۳۴/۱ و ۱/۱±۳۴/۵ (میلی‌گرم بر گرم وزن بافت مغز) بود که در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود (p< ۰/۰۵) در حالیکه در دوز پایین (یعنی ۵۰ میلی‌گرم) تأثیر خاصی دیده نشد.



نمودار ۱. میزان کلسترول، کلسترول استر و تری‌گلیسرید بافت مغز بر حسب گروههای آزمایشی و کنترل

CE: کلسترول استر، C: کلسترول، TG: تری‌گلیسرید، ***: p< ۰/۰۰۱

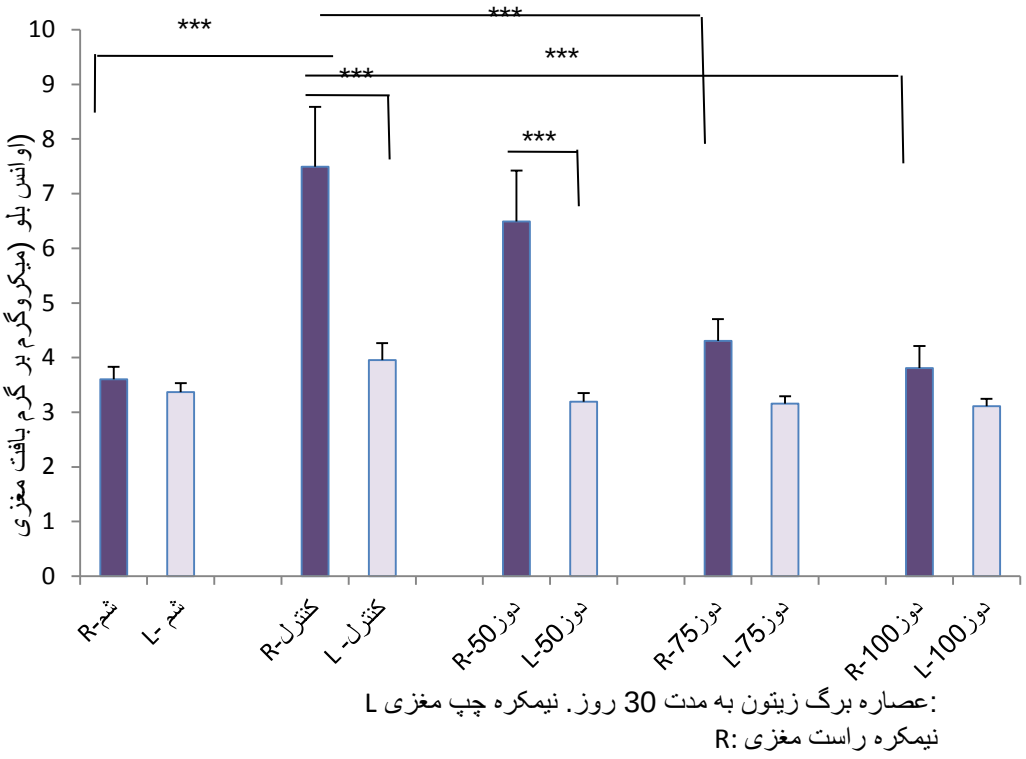
تأثیر دوزهای عصاره برگ زیتون بر نفوذپذیری سد خونی-مغزی در نمودار شماره ۲ ارائه گردیده و نشان می‌دهد که عصاره برگ زیتون، سبب کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی و در نتیجه کاهش محتوای آب مغزی می‌گردد. نشانگر کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی، کاهش غلظت اوانس بلو در بافت مغز است. غلظت اوانس بلو در نیمکره آسیب دیده (نیمکره راست) در گروههای تیمار شده با عصاره برگ، در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت و این کاهش در دوزهای ۷۵ و mg/kg ۱۰۰ در برابر گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود (در هر دو مورد: p< ۰/۰۰۱). در ضمن بین نیمکره‌های راست و چپ در گروههای شاهد و گروه دوز ۵۰ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (p<۰/۰۰۱)، اما بین نیمکره‌های راست و چپ در گروههای تیمار شده با دوزهای ۷۵ و mg/kg ۱۰۰ اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت.

بحث

این تحقیق نشان داد خوردن عصاره برگ زیتون در گروههای آزمایشی سبب کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی می‌شود و همچنین پیش تغذیه با این عصاره سبب افزایش سطح کلسترول، کلسترول استر و تری‌گلیسرید مغزی در گروههای آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. پیش تغذیه با عصاره برگ زیتون با دوزهای ۷۵ و mg/kg ۱۰۰ باعث کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی می‌شود و این اثر در پایینترین دوز عصاره برگ زیتون یعنی mg/kg ۵۰ دیده نمی‌شود (۷).

مکانیزم‌های زیادی برای چگونگی تخریب سد خونی- مغزی پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به وجود آمدن شکاف بین سلول‌های اندوتلیالی به علت واسطه‌های التهابی مثل ترومبین که سبب انقباض اندوتلیال می‌شود را نام برد. تنظیم مثبت فاکتور رشد اندوتلیال (VEGF) در طی ایسکمی سبب افزایش هدایت آبی و شکسته شدن اتصالهای محکم بین سلولهای اندوتلیالی می‌شود. در ایسکمی آنزیم‌هایی فعال می‌شوند که با هضم غشای پایه سبب فروپاشی جامعیت سد خونی- مغزی می‌شوند که از جمله آنها می‌توان به MMPها اشاره کرد. همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های NOS (چه iNOS و چه nNOS) می‌تواند به سد خونی- مغزی آسیب بزند (۱۳). ایجاد ادم بعد از ایسکمی و خونرسانی مجدد، با ناتوانی سد خونی- مغزی برای حفظ گرادیان یون‌ها همراه است. سد خونی- مغزی با حضور اتصالات محکم شناخته می‌شود. اتصالات محکم مناطقی از غشا هستند که کلسترول بیشترین غلظت را در این مناطق دارد (۱۴). کلسترول استر مهمترین حامل و شکل ذخیره‌ای کلسترول در ذرات لیپوپروتئین و اکثر انواع سلول‌هاست. طی امبریوژنز، نورون‌ها کلسترول مورد نیاز

خود را سنتز می‌کنند؛ سپس آستروسیت‌ها تمایز می‌یابند و نورون‌ها بالغ می‌شوند و در نورون‌ها سنتز کلسترول به پایینترین حد خود می‌رسد و نورون‌ها کلسترول مورد نیاز خود را از آستروسیت‌ها به کمک ذرات آلیپوپروتئین مثل ApoE دریافت می‌کنند. سطح کلسترول مغزی از طریق تبدیل کلسترول به ۲۴- S- هیدروکسی کلسترول (24-OH-chol) که از سد خونی- مغزی خیلی راحتتر از کلسترول عبور می‌کند تنظیم می‌شود (۱۵). تقریباً ۷۰٪ کلسترول مغز در غشای میلینی است که توسط الیگودندروسیت‌ها در اطراف آکسون‌ها پیچیده شده است. نورون‌ها به فرآیندهای پر انرژی از سنتز کلسترول در آستروسیت‌ها متکی هستند. آستروسیت‌ها مهمترین قسمت در مغز برای سنتز کلسترول هستند (۱۵).



:عصاره برگ زیتون به مدت 30 روز. نیمکره چپ مغزی L
نیمکره راست مغزی :R

نمودار ۲. میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی بر حسب سمت نیمکره و به تفکیک گروههای مورد و مکان، *: ۰/۰۰۱ >p**

در این مطالعه دیده شد که تیمار با عصاره برگ زیتون باعث افزایش کلسترول و کلسترول استر و تری‌گلیسرید مغزی در گروههای آزمایشی می‌شود. افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی در اثر مصرف عصاره برگ زیتون باعث افزایش استحکام سد خونی- مغزی در برابر آسیب ایسکمی و خونرسانی مجدد می‌شود. مصرف عصاره برگ زیتون، بیان پروتئین کموتاکتیک مونوسیت MCP-1 (فاکتوری کموتاکتیک به خصوص برای مونوسیتها که تحت تحریکهای مختلف از سلول‌های اندوتلیالی و یا سلول‌های ماهیچه صاف تولید می‌شود) را در سطح پروتئین و mRNA، و بیان ملکول چسبان سلولی رگها (VCAM) را در سطح پروتئین کاهش می‌دهد. عصاره برگ زیتون موجب کاهش فعالیت NFκB و کاهش بیان TNFα می‌شود که نشاندهنده مهار التهاب است. همچنین این عصاره سبب کاهش سطح مالون دی‌آلدهید (MDA)، که نشانگر پراکسیداسیون لیپید است، هم شده است (۸). مطالعات نشان داده که شکسته شدن سد خونی- مغزی و وقوع هموراژی می‌تواند نتیجه فعال شدن متالوپروتئینازهای ماتریکسی (MMPs) باشد (۱۶). MMPها خانواده‌ای از اندوپپتیدازها هستند. مطالعات بر روی فعالیت MMP-2 و MMP-9 طی ایسکمی و خونرسانی مجدد متمرکز شده‌اند، زیرا سوبستراهای اختصاصی این آنزیم‌ها، پروتئین‌های موجود در ماتریکس خارج سلولی اندوتلیالی مثل فیبرونکتین، لامینین و کلاژن هستند. در مرحله ادم وازوژنیک سد خونی- مغزی تخریب شده و پروتئین‌های پلاسمایی از جمله آلبومین، دکستران و ایمونوگلوبین G وارد فضای خارج سلولی می‌شوند (۱۷). ترکیبات فنولی عصاره برگ زیتون می‌توانند با مهار فعالیت فاکتور رونویسی NFκB از فعال شدن MMP9 و درنتیجه از تخریب سد خونی- مغزی جلوگیری کنند. مطالعات زیادی برای مشخص کردن اثر عصاره برگ زیتون در کاهش آسیبهای ناشی از سکته مغزی نیاز است ولی عصاره

برگ زیتون به دلیل محتوای بالای ترکیبات فنولی یک کاندیدای ایده‌آل قوی برای پیشگیری از ایسکمی مغزی به صورت تنها یا با کمک دارویی برای علم پزشکی می‌باشد.

از ضعفهای این تحقیق می‌توان به مدل‌سازی سکته مغزی اشاره کرد که با شرایط طبیعی بدن که ممکن است سکته مغزی اتفاق بیافتد متفاوت است. از نقاط قوت این تحقیق می‌توان به اندازه‌گیری متغیرهای زیادی از جمله سطح کلسترول، کلسترول استر و تری‌گلیسرید بافت مغزی و همچنین اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی در گروههای آزمایشی و مقایسه با گروه کنترل اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

اگرچه ممکن است عصاره برگ زیتون با تغییر در سطح لیپیدهای مغزی و کاهش نفوذپذیری مغزی در مدل ایسکمی- خونرسانی مجدد موشهای صحرایی، اثر محافظت عصبی داشته باشد، اما کارهای بیشتری نیاز است تا این مشاهدات را گسترش دهد.

این پژوهش با حمایت مالی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی و دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است.

REFERENCES

1. Lakhan SE, Kirchgessner A, Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. J Transl Med 2009;7:97.

2. White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman LI, et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. J Neurol Sci 2000;179(S 1-2):1-33.

3. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Lipids and lipidomics in brain injury and diseases. AAPS J 2006;8(2):E314-21.

4. Warner DS, Sheng H, Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. J Exp Biol 2004;207(Pt 18):3221-31.

5. Fukui S, Ookawara T, Nawashiro H, Suzuki K, Shima K. Post-ischemic transcriptional and translational responses of EC-SOD in mouse brain and serum. Free Radic Biol Med 2002;32(3):289-98.

6. Visioli F, Bellosta S, Galli C. Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. Life Sci 1998;62(6):541-6.

7. Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasoulian B, Hashemi P, Pour MR. The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. Phytomedicine 2011;18(2-3):170-5.

8. Wang L, Geng C, Jiang L, Gong D, Liu D, Yoshimura H, et al. The anti-atherosclerotic effect of olive leaf extract is related to suppressed inflammatory response in rabbits with experimental atherosclerosis. Eur J Nutr 2008;47(5):235-43.

9. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke 1989;20:84-91.

10. Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulian B, Asgari AR, et al. Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF-alpha level. Exp Neurol 2008;212(2):298-306.

11. Hauser EC, Kasperzyk JL, d'Azzo A, Seyfried TN. Inheritance of lysosomal acid beta-galactosidase activity and gangliosides in crosses of DBA/2J and knockout mice. Biochem Genet 2004;42(7-8):241-57.

12. Macala LJ, Yu RK, Ando S. Analysis of brain lipids by high performance thin-layer chromatography and densitometry. J Lipid Res 1983;24(9):1243-50.

13. Sharma HS, Drieu K, Alm P, Westman J. Role of nitric oxide in blood-brain barrier permeability, brain edema and cell damage following hyperthermic brain injury. An experimental study using EGB-761 and Gingkolide B pretreatment in the rat. Acta Neurochir Suppl 2000;76:81-6.

14. Huber JD, Egleton RD, Davis TP. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. Trends Neurosci 2001;24(12):719-25.

15. Turley SD, Burns DK, Rosenfeld CR, Dietschy JM. Brain does not utilize low density lipoprotein-cholesterol during fetal and neonatal development in the sheep. J Lipid Res 1996;37(9):1953-61.

16. Asahi M, Wang X, Mori T, Sumii T, Jung JC, Moskowitz MA, et al. Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. J Neurosci 2001;21(19):7724-32.

17. Simard JM, Kent TA, Chen M, Tarasov KV, Gerzanich V. Brain oedema in focal ischaemia: molecular pathophysiology and theoretical implications. Lancet Neurol 2007;6(3):258-68.