Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

Physiology and Pharmacology, 16 (3), 245-254
Autumn 2012 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Relationship between dietary virgin Olive oil on brain Cholesterol, Cholesteryl ester and Triglyceride levels and Blood Brain Barrier (BBB) permeability in a rat stroke model

Zahra Rabiei[1], Mohammad Reza Bigdeli[2*], Fatemeh Mohagheghi[2], Bahram Rasoulian[3]

1. Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2. Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, G.C. Tehran, Iran
3. Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Received: 28 Feb 2012 **Accepted: 25 June 2012**

Abstract

Introduction: Recent studies suggest that dietary virgin olive oil (VOO) reduces hypoxia-re oxygenation injury in rat brain. We have attempted to determine the effect of dietary virgin olive oil on brain lipidomics and its relationship with brain edema in a rat stroke model.

Methods: Five groups, each consisting of 6 male Wistar rats, were studied. The first and second groups (control and sham) received distilled water, while three treatment groups received oral VOO for 30 days (0.25, 0.5 and 0.75 ml/kg/day, respectively). Two hours after the last dose, each main group was subdivided into middle cerebral artery occlusion (MCAO)-operated and intact subgroups for assessment of neuropathology (blood brain barrier permeability) and brain lipid analysis.

Results: VOO increased the brain cholesteryl ester and cholesterol levels in doses of 0.5 and 0.75 ml/kg/day. VOO in all three doses increased the brain triglyceride levels ($p<0.05$). Oral administration of VOO reduces infarct volume, brain edema, blood brain barrier permeability, after transient MCAO in rats.

Conclusion: Although further studies are needed to clarify the mechanisms of ischemic tolerance, VOO is partly associated with increased levels of brain cholesteryl ester, cholesterol and triglyceride in rats.

Key words: Cholesterol, cholesteryl ester, triglyceride, virgin olive oil, brain ischemia and reperfusion

* Corresponding author e-mail: bigdelimohammadreza@yahoo.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۶ (۳)، ۲۴۵- ۲۵۴
پاییز ۱۳۹۱

ارتباط بین اثر پیش تغذیه روغن زیتون بکر بر سطح کلسترول، کلسترول استر و تریگلیسرید مغزی و میزان نفوذپذیری سد خونی – مغزی در مدل سکته مغزی رت

زهرا ربیعی[۱]، محمدرضا بیگدلی[۲*]، فاطمه محققی[۲]، بهرام رسولیان[۳]
۱. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد
۲. دانشکده زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۳. تحقیقات داروهای گیاهی رازی، لرستان، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد

دریافت: ۹ اسفند ۹۰ پذیرش: ۵ تیر ۹۱

چکیده

مقدمه: مطالعات اخیر پیشنهاد می کند که پیش تغذیه روغن زیتون بکر باعث کاهش آسیب ناشی از هیپوکسی- اکسیژنرسانی مجدد در مغز رت می شود. ما تلاش کردیم ارتباط بین اثر روغن زیتون بکر خوراکی بر لیپیدومیکس مغزی و میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی را در مدل سکته مغزی رت مشخص کنیم.

روش‌ها: گروهها، هر کدام شامل ۶ رت نر از نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه اول و دوم (کنترل و شم) آب مقطر دریافت می کنند در حالیکه سه گروه تیمار روغن زیتون بکر را به صورت خوراکی از طریق گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت می کنند (۰/۲۵ ، ۰/۵و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب). دو ساعت بعد از آخرین دوز هر گروه اصلی به زیر گروههای MCAO برای اندازه گیری نفوذپذیری سد خونی- مغزی و زیرگروه برای آنالیز لیپیدهای مغزی تقسیم می شوند.

یافته ها: تمامی پیش تیمار با روغن زیتون بکر خوراکی باعث افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ می شود. همچنین روغن زیتون بکر در سه دوز باعث افزایش سطح تری گلیسرید مغزی می شود. تغذیه با روغن زیتون بکر باعث کاهش حجم سکته مغزی، کاهش ادم مغزی و کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی بعد از MCAO در رت می شود.

نتیجه گیری: گرچه مطالعات زیادی برای مشخص کردن مکانیسم های دخیل در مقاومت به ایسکمی لازم است روغن زیتون بکر ممکن است با اثر بر سطح لیپیدهای مغزی و کاهش نفوذپذیری سد خونی- مغزی باعث ایجاد نوروپروتکشن شود.

واژه‌های کلیدی: کلسترول، کلسترول استر، تری گلیسرید، روغن زیتون بکر، ایسکمی و خونرسانی مجدد

مقدمه

ایسکمی مغزی موجب رها شدن بیش از حد اسید آمینه های تحریکی و فعال شدن گیرنده های آنها و در نتیجه ورود کلسیم به درون سلول و اختلالات الکتروفیزیولوژی و متابولیکی و پراکسیداسیون لیپید و سایر فرایندهای اکسیداتیو می‌شود [۱۰]. ایسکمی-خونرسانی مجدد فرایندی به نام استرس اکسیداتیو را به راه به می‌اندازد که آسیب ایسکمی را تشدید می‌کند. استرس اکسیداتیو می‌تواند موجب تشکیل نیتریک اکسید و سوپر اکسید شود که آشفتگی در تولید یا متابولیسم هر یک از این دو می‌تواند عوارض آسیب شناسی

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: bigdelimohammadreza@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

داشته باشد [۲۳]. پدیده های متعددی در طی ایسکمی و خونرسانی مجدد دیده می‌شود که شامل آسیب به لیپید های غشا مخصوصاً به صورت لیپولیزیس در طی ایسکمی و پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده وابسته به رادیکالها در طی خونرسانی مجدد است [۴]. رژیم غذایی مدیترانه ای غنی از فراورده های گیاهی مانند میوه‌ها سبزی‌ها دانه‌ها و گیاهان وحشی است. در این مناطق میزان بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان، چاقی، دیابت و سایر بیماریهای ناشی از فرایندهای اکسیداتیو پایین است [۱۳]. روغن زیتون منبع اصلی چربی در این رژیم غذایی است. آثار حفاظتی این روغن به علت محتوی بالای اسید های چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه از جمله اسید اولئیک و غنی بودن آن از ترکیبات پلی فنول با خاصیت آنتی اکسیدانی است [۲۷]. روغن زیتون بکر (VOO)، طبق تعریف شورای جهانی روغن زیتون، روغن زیتونی است که تنها توسط روشهای مکانیکی و فیزیکی مثل سانتریفیوژ و جداسازی روغن تهیه می‌شود. تیروزول و هیدروکسی تیروزول دو شاخص مهم از ترکیبات فنولی VOO هستند که به اشکال آزاد یا مرکب وجود دارند. هرچند محتوی فنولها چه به صورت کل و چه منفرد در میان ارقام مختلف زیتون و بسته به محل کشتشان فرق می‌کند، فرم آزاد تیروزول و هیدروکسی تیروزول و مشتقات secoroid آنها حدود ۳۰ درصد و سایر اشکال ترکیبی آنها مثل اولئوروپین و ligstrosideaglycone تقریباً نصف ترکیبات فنولی را تشکیل می‌دهند [۱۶]. فعالسازی فسفولیپازها به دنبال ایسکمی مغزی باعث آزادسازی پیامبرهای ثانویه لیپیدی مثل ۱و۲ دی آسیل گلیسرول، فسفاتیدیک اسید، لیزوفسفاتیدیک اسید، دکوزاهگزانوئیک اسید و آراشیدونیک اسید می‌شود. از متابولیسم بیشتر اسید آراشیدونیک توسط آنزیم های سیکلواکسیژناز و یا لیپوکسیژناز، مولکولهای پیام رسان مهم تولید می‌شوند [۱]. در طی امبریوژنز نورونها کلسترول مورد نیاز خود را سنتز می‌کنند سپس آستروسیت‌ها تمایز می یابند 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 [۱۶]. پیش تغذیه با روغن زیتون بکر در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش حجم سکته مغزی می‌شود در حالیکه این اثر در دوز پایین ۰/۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دیده نمی‌شود [۱۴]. پیش تغذیه با روغن زیتون بکر سطح کلسترول خون را در دوزهای ۰/۲۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلو گرم افزایش می‌دهد. سطح تری گلیسرید خون در دوزهای ۰/۲۵ و ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم روغن زیتون در مقایسه با گروه کنترل بیشتر است. پیش تیمار با روغن زیتون بکر با دوزهای ۰/۲۵ و ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم سطح LDL/HDL سرم را کاهش می‌دهد [۱۴]. در این مطالعه ما سعی کردیم ارتباط بین تغییر سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسرید مغزی در اثر تغذیه با روغن زیتون بکر و تغییر نفوذپذیری سد خونی- مغزی در مدل سکته مغزی را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش ها

رتهای نر بالغ نژاد ویستار در محدوده‌ی 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 سلسیوس و با غذای استاندارد موشهای صحرایی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران در مدت مطالعه نگهداری شدند.

برای تهیه روغن زیتون بکر، زیتون از گونه Olea europaea و رقم زرد که قسمت عمده زیتون ایران را تشکیل می‌دهد از مرکز تحقیقات زیتون رودبار دستچین و همراه با هسته آسیاب شد. سپس به وسیله سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه روغن آن استخراج شد و در ظرفی تیره در دمای ۱۰-۱۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. ترکیبات روغن زیتون بکر مورد استفاده در این آزمایش توسط محققی و همکاران شناسایی شده است.

رت‌ها به ۴ گروه اصلی تقسیم می‌شوند که هر کدام شامل ۶ حیوان است که به مدت ۳۰ روز در ساعت ۱۱-۱۲ به صورت خوراکی از طریق گاواژ دارو دریافت کردند گروه کنترل آب مقطر دریافت کرد و ۳ گروه آزمایشی دیگر روغن زیتون با دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن بدن از

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

طریق گاواژ دریافت کردند. دوزهای انتخابی بر اساس مطالعات انجام شده‌ی قبلی توسط گنزالس و همکارانش [۶] و بر اساس میانگین مصرف روغن زیتون در مدیترانه که ۴۶ گرم در روز است انتخاب شد [۱۷]. دو ساعت بعد از آخرین تیمار هر گروه اصلی به زیر گروه MCAO و زیر گروه دست نخورده که برای اندازه گیری میزان نفوذپذیری سد خونی- مغزی و آنالیز لیپیدهای مغزی تقسیم می‌شوند و گروه شم (n=6) که تیمار و القای ایسکمی صورت نمی‌گیرد.

برای ایجاد مدل سکته مغزی (انسداد شریان مرکزی مغز)، رتها بعد از توزین، با داروی کلرال هیدرات (مرک، آلمان) به میزان ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیهوش می‌شوند. جراحی مدلسازی انسداد شریان میانی مغز یا همان MCAO مطابق دستورالعمل لونگا و همکارانش انجام شد [۱۱]. به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون۰-۳ از طریق تنه شریان کاروتیدی خارجی (ECA)[1] وارد رگ شریانی راست می‌شود و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی (ACA)[2] از میان شریان کاروتیدی داخلی (ICA)[3] باپتریگوپالاتین بسته ادامه داده می‌شود در اثر تماس نخ بخیه و ACA جریان خون از هر طرف به MCA بسته می‌شود. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت در پیشروی نخ و ورود حدود ۲۰ میلیمتر طول نخ از تنه ECA مشخص می‌شود. بعد از ۶۰ دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت می‌گرفت. دمای بدن از طریق رکتوم با کمک دماسنج دیجیتالی (Geratherm color, Germany) اندازه گیری می‌شود و در حدود ۳۷ درجه سلسیوس حفظ می‌شود.

استحکام سد خونی- مغزی توسط اندازه گیری میزان خروج اوانس بلو (EB) ارزیابی می‌شود. نخست، رت ها از طریق ورید دم محلول اوانس بلوی ۲ درصد را به اندازه ۴ میلی لیتر در کیلوگرم وزن بدن بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی دریافت می‌کردند. ۲۴ ساعت بعد از جریان مجدد خون، رت ها تحت بی هوشی از ناحیه قفسه سینه باز می‌شوند و با ۲۵۰ میلی لیتر سالین از طریق بطن چپ از وجود اوانس بلو داخل رگی پاک می‌شوند تا زمانی که مایع پرفیوز بی رنگ از دهلیز راست خارج شود سپس مغز خارج می‌شود. برای اندازه گیری میزان خروج EB، بافت مغز در ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات هموژن شده و برای رسوب پروتئین به آن ۲/۵ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک ۶۰٪ اضافه می‌شود. سپس ۳ دقیقه با ورتکس به هم زده می‌شود و ۳۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد خنک می‌شود. آنگاه به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ می‌شود. در نهایت، جذب نوری اوانس بلو در بخش رویی توسط اسپکتوفتومتر (Perkin-Elmer امریکا) در طول موج ۶۱۰ نانو متر اندازه گیری می‌شود و مطابق منحنی استاندارد غلظت آن محاسبه می‌گردد [۳].

در پایان روز سی‌ام تمام رت ها از طریق تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات با دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن کشته شدند و مغزشان بعد جدا کردن سرشان به سرعت خارج شده و نیمکره ی راست مغز از سایر قسمت‌های مغز مثل نیمکره‌ی چپ و مخچه و پل مغزی جدا شده و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس برای آنالیزهای لیپیدی نگهداری می‌شود. نمونه‌ی مغزی با ۵ میلی لیتر کلروفورم و متانول با حجم ۱ به ۱ و ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر روی مگنتیک استیرر در دمای اتاق به مدت حداقل ۸ ساعت گذاشته می‌شود و با این روش کل لیپیدها از بافت مغزی جداسازی می‌شوند. بعد از ۸ ساعت نمونه از روی استیرر برداشته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰g سانتریفیوژ می‌شود سپس سوپ بافتی را برداشته شده و رسوب باقیمانده و ظرفی که بافت مغز در آن هموژن شده را با ۲ میلی لیتر کلروفورم و متانول با حجم ۱به ۱ شسته و دوباره سانتریفیوژ می‌کنیم و سوپ بافتی را برداشته و با سوپ بافتی اولی ترکیب می‌کنیم و در دمای ۴ درجه سلسیوس برای جداسازی و خالص سازی و شناسایی لیپیدها نگهداری می‌شود. جداسازی لیپیدها با استفاده از ستون کروماتوگرافی DEAE - sephadex انجام می‌شود.

ستون بعد از آماده سازی دو بار با حلال A که شامل کلروفورم: متانول: آب با حجم ۸:۶۰:۳۰ است شسته می‌شود و لیپید های خنثی در حلال A جمع آوری می‌شوند که اینها شامل کلسترول و کلسترول استر و تریگلیسرید است. لیپیدها بر روی پلیت ۱۰×۲۰ سیلیکاژل HPTLC ۶۰، (مرک و آلمان) با استفاده از دستگاه HPTLC مدل camag – linomat auto

1. External carotid artery
2. Anterior cerebral artery
3. Internal carotid artery

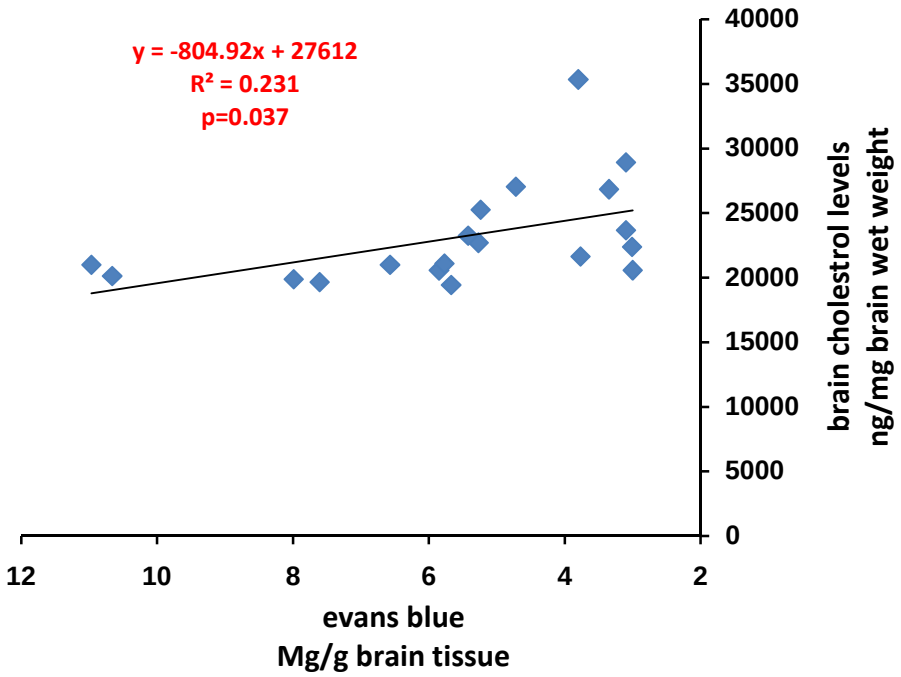
Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

TLC – spotter نقطه گذاری می‌شوند. بعد از اتمام نقطه گذاری پلیت ها در بافری که شامل کلروفرم: متانول: استیک اسید: فرمیک اسید (با حجم ۶۵:۳۵:۲:۱) است غوطه‌ور می‌شود تا بافر تا ارتفاع ۴/۵ سانتی متری پلیت بالا رود سپس از بافر خارج شده خشک می شود و در بافر دوم که شامل هگزان: دی ایزوپروپیل اتر: استیک اسید با حجم (۶۵:۳۵:۲) غوطه‌ور می شود تا بافر تا ارتفاع ۱۰ سانتی متری پلیت حرکت کند و لیپیدها بر روی باندهای جدا در پلیت قرار می‌گیرند. لیپیدهای خنثی روی پلیت با استفاده از معرف کوپریک استات ۳٪ در محلول ۸٪ فسفریک اسید به دنبال حرارت دادن در آون با دمای ۱۶۰-۱۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه ظاهر می‌شوند و سپس پلیت ها توسط دستگاه اسکنر در طول موج ۳۵۰ نانومتر اسکن می‌شوند [۱۲]. تمام آنالیزها با کمک نرم افزار SPSS V.16.0 انجام شد. نفوذپذیری سد خونی- مغزی با استفاده از آزمون آنوای یکطرفه (ONE WAY ANOWA)، روش مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام شد. ارتباط بین سطح لیپیدهای مغزی و نفوذپذیری سد خونی- مغزی با استفاده از آزمون correlation pearson انجام شد و $p<0.05$ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

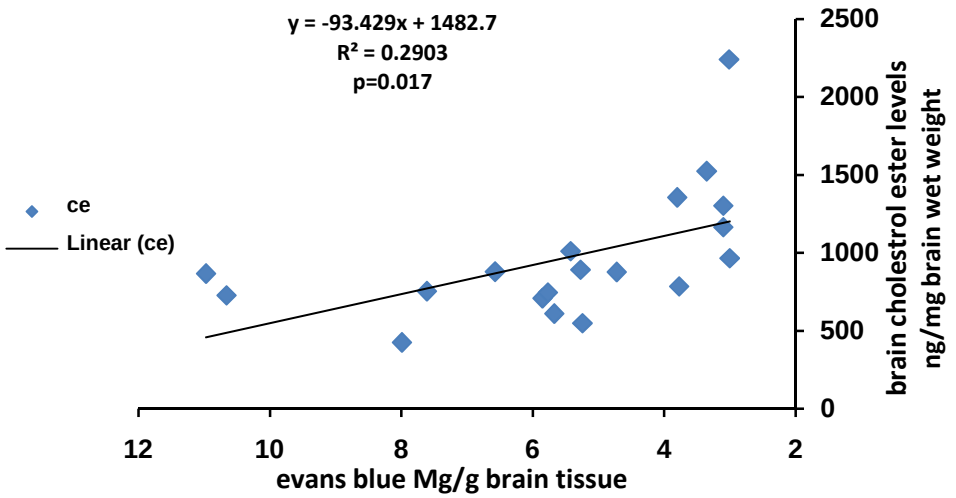
میزان ترکیبات فنولی موجود در روغن زیتون بکر استفاده شده در این مطالعه اندازه گیری شده و کل پلی فنول های آن ۳۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. کاهش حجم آسیب بافتی و نقصهای نورولوژیک اثر پدیده تحمل به ایسکمی حاصل از مصرف روغن زیتون بکر را اثبات می‌کند. روغن زیتون بکر خوراکی باعث افزایش سطح کلسترول، کلسترول استر مغزی در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ می‌شود. روغن زیتون بکر در دوزهای ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ باعث افزایش سطح تریگلیسرید مغزی می شود. ارتباط معنی دار بین افزایش سطح کلسترول ($p=0.037$ و $r^2=0.231$)، کلسترول استر ($p=0.017$ و $r^2=0.29$)، تریگلیسرید مغزی ($p=0.034$ و $r^2=0.238$) و کاهش نفوذپذیری سد خونی - مغزی در گروههای آزمایشی وجود دارد. شکل ۱،۲،۳

تولید ادم مغزی از افزایش نفوذ پذیری سد خونی - مغزی منشأ می‌گیرد. روغن زیتون بکر خوراکی، سبب کاهش این نفوذ پذیری و در نتیجه کاهش محتوی آب مغزی می‌گردد. نشانگر کاهش نفوذ پذیری سد خونی-مغزی کاهش غلظت اوانس بلو

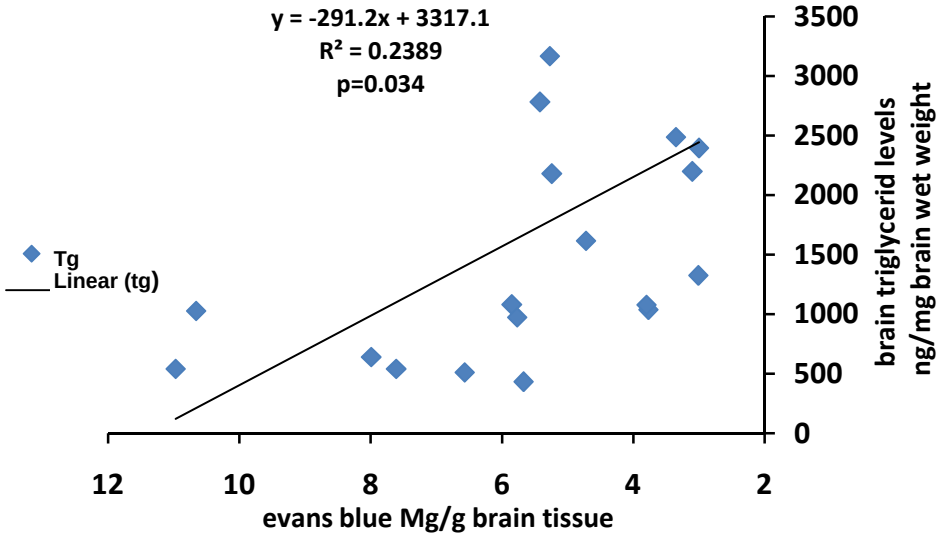


شکل ۱- نمودار correlation بین غلظت کلسترول مغزی و نفوذپذیری سد خونی- مغزی. ارتباط معنی دار ($p=0.037$ و $R^2 = 0.231$) بین افزایش سطح کلسترول مغزی و کاهش نفوذپذیری سد خونی مغزی در اثر پیش تغذیه با روغن زیتون بکر وجود دارد.

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017



شکل ۲- نمودار correlation بین غلظت کلسترول استر مغزی و نفوذپذیری سد خونی مغزی. ارتباط معنی دار ($p=0.017$ و $r^2= 0.29$) بین افزایش سطح کلسترول استر مغزی و کاهش نفوذپذیری سد خونی مغزی در اثر تیمار با روغن زیتون بکر وجود دارد.



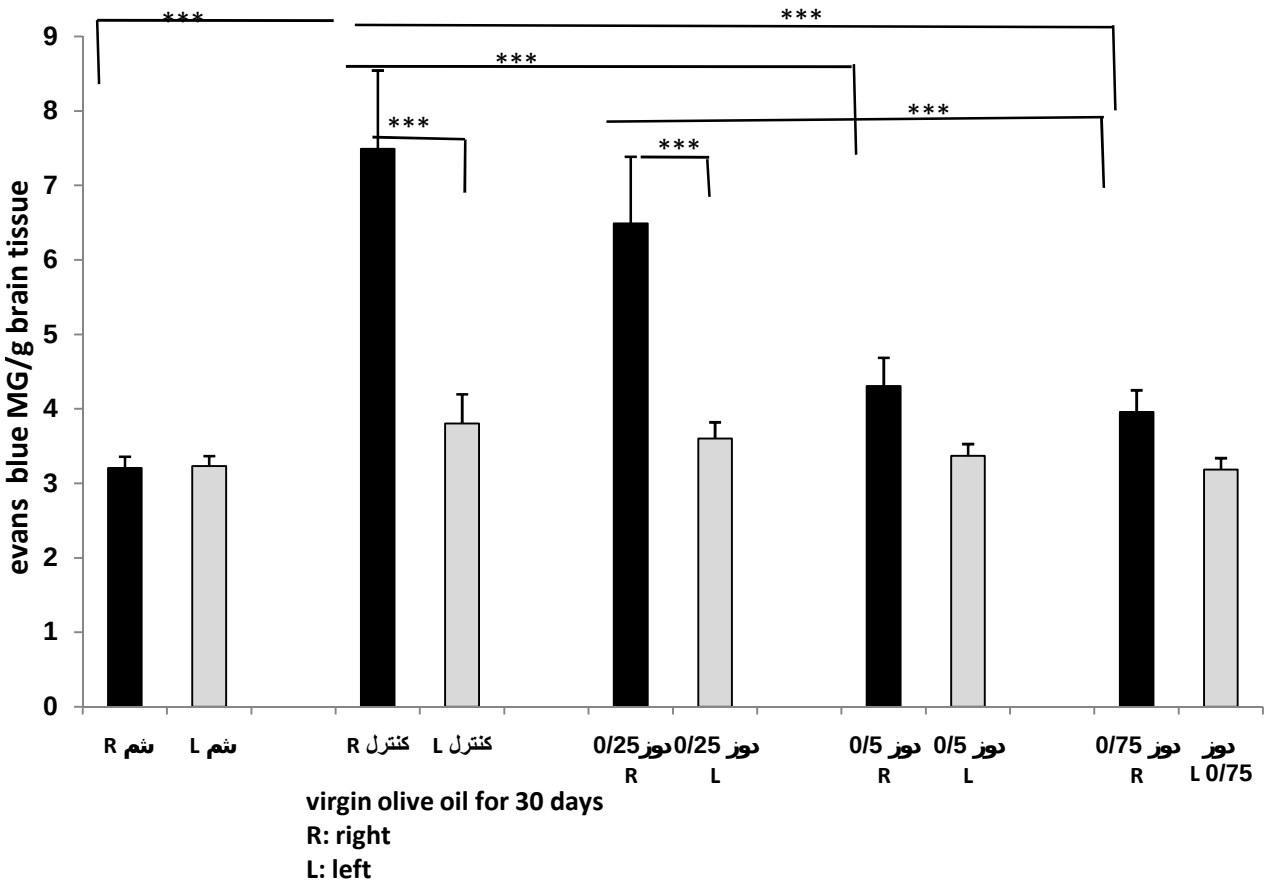
شکل۳- نمودار correlation بین غلظت تریگلیسرید مغزی و نفوذپذیری سد خونی–مغزی. ارتباط معنی دار ($p=0.034$ و $r^2=0.023$) بین سطح تریگلیسرید مغزی و کاهش نفوذپذیری سد خونی مغزی در اثر تیمار با روغن زیتون بکر وجود دارد.

در بافت مغز است. غلظت اوانس بلو در نیمکره آسیب دیده (نیمکره راست) در گروههای تیمار شده با روغن زیتون، در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت و این کاهش در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ در برابر گروه شاهد از نظر آماری معنی دار بود ($p<0.05$) (*** $p=0.000$, $n=6$). در ضمن بین نیمکره های راست و چپ در گروههای شاهد و گروه دوز ۰/۲۵ تیمار شده با روغن زیتون اختلاف معنی دار وجود داشت ($p<0.05$) (*** $p=0.000$, $n=6$). اما بین نیمکره های راست و چپ در گروههای تیمار شده با روغن زیتون در دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ اختلاف معنی داری از لحاظ آماری وجود نداشت (شکل۴).

بحث

در این مطالعه دیده شد که مصرف خوراکی روغن زیتون بکر باعث افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی در گروههای روغن زیتون با دوزهای ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی لیتر بر کیلوگرم می شود. تشکیل ادم بعد از ایسکمی و خونرسانی مجدد با ناتوانی سد خونی– مغزی برای حفظ گرادیان یونها همراه است. کلسترول استر مهمترین حامل و شکل ذخیره‌ای کلسترول در ذرات لیپوپروتئین و اکثر انواع سلولهاست. تیمار با روغن زیتون باعث افزایش کلسترول و کلسترول استر مغزی

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017



شکل ٤- نمودار مقایسه نفوذپذیری سد خونی مغزی در گروههای آزمایشی. (*** p=0.000, n=6;)

می شود و ممکن است باعث افزایش استحکام پذیری سد خونی مغزی در برابر تشکیل ادم مغزی می شود. با اینکه مطالعات نشان می‌دهند که مغز تمام کلسترول مورد نیاز خود را می‌سازد و نیازی به استروئیدهای موجود در گردش سیستمیک ندارد. لیپوپروتئینهای پلاسما از سد خونی- مغزی عبور نمی‌کنند و مقادیر قابل توجه کلسترول به مغز نمی‌رسد [۲۴]. مطالعات مجدد در مورد احتمال اینکه سطح کلسترول در گردش سیستمیک می‌تواند عملکرد CNS را تغییر دهد انجام شده است. بدیهی است که غلظت کلسترول موجود در گردش سیستمیک در بچه تازه متولد شده، رشد و نمو مغز و حتی هوش بچه را تحت تأثیر قرار دهد. در افراد بالغ سطح پایین کلسترول در گردش سیستمیک ممکن است مسئول افسردگی و پرخاش باشد [۲۶، ۷]. مغز حاوی مولکولهای آپولیپوپروتئینی مختلف است مثلاً آپولیپوپروتئین E و آپولیپوپروتئین I [۲۰]. هر مولکول کلسترولی که وارد یا خارج CNS می شود باید از سدخونی- مغزی عبور کند. اگرچه بعید است که کلسترول در لیپوپروتئین‌هایی که از طریق غشاهای مویرگی یا از طریق انتشار بین سلولی به CNS می‌رسند منتقل شود ولی احتمالاً سه مکانیسم در حرکت مستقیم کلسترول از میان سد خونی- مغزی نقش دارد. مکانیسم اول اینکه غشای پلاسمایی سلولهای اندوتلیالی شامل ترانسپورترهای لیپوپروتئینی عملکردی نظیر LDLR یا (scavenger receptor class B) SR-BI باشد.

مکانیسم دوم اینکه اگرچه انتقال وزیکولی کلسترول در مغز خیلی کم است ولی ممکن است که مقدار کمی حرکت اندوستیک ترانس سلولی در سلولهای اندوتلیال اتفاق بیفتد.

مکانیسم سوم اینکه ممکن است کلسترول غیر استریفیه یا کلسترول هیدروکسیله به صورت غیر فعال از میان سد خونی- مغزی عبور کند [۸]. آپولیپو پروتئینهای apoE، apoA-IV، apoD، در مایع مغزی- نخاعی شناسایی شده‌اند و اعضای متنوعی از ترانسپورترهای ABC در سلولهای ویژه ای از CNS بیان می‌شوند [۵، ۲۸].

آستروسیت‌ها و زواید پایی آنها مویرگ‌های مغزی را غلاف دار کرده و نقش مهمی در حفظ سد خونی - مغزی دارند. در

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

ایسکمی مغزی آستروسیت‌ها متورم شده و سد خونی- مغزی تخریب می شود [۸]. تقریباً ۷۰ درصد کلسترول مغز در غشای میلینی است که توسط الیگودندروسیت ها اطراف آکسون ها پیچیده شده است. نورونها به فرایند های پرانرژی از سنتز کلسترول در آستروسیت‌ها متکی هستند. آستروسیت‌ها مهمترین قسمت در مغز برای سنتز کلسترول هستند [۱۸]. سد خونی- مغزی با حضور اتصالات محکم شناخته می شود. اتصالات محکم مناطقی از غشا هستند که کلسترول بیشترین غلظت را در این مناطق دارد [۸].

در آزمایشی رت های اسپیراگودالی به ۵ گروه تقسیم شدند که شامل گروه روغن زیتون، گروه مارگارین، گروه روغن سویا و گروه روغن آفتابگردان و گروه کره که هر کدام به میزان ۱۵ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن روغن به مدت ۸ هفته تیمار شدند و اثر این تیمارها بر کلسترول و تری گلیسرید مغز بررسی شد. نتایج نشان داد سطح کلسترول و تری گلیسرید مغز در تمام گروهها نسبت به کنترل بالاتر است به غیر از سطح تری گلیسرید مغز در گروه مارگارین سطح کلسترول در گروه روغن زیتون به طور چشمگیری نسبت به سایر گروهها بالاتر است به غیر از گروه روغن آفتابگردان و سطح تری گلیسرید مغز در گروه روغن زیتون نسبت به سایر گروهها به طور چشمگیری بالاتر است به جز گروه روغن سویا. کلسترول برای سنتز غشا و فعالیت‌های دیگر سلولها به کار می‌رود [۹]. در این مطالعه که روش اندازه گیری لیپیدهای مغزی با استفاده از کیت بوده و با روش استفاده شده در این مطالعه که از طریق کروماتوگرافی بوده متفاوت است نتایج ما را تایید می‌کند که مصرف روغن‌های خوراکی می‌تواند سطح لیپیدهای مغزی مثل کلسترول، کلسترول استر و تریگلیسرید را تغییر دهد. با توجه به نتایج این آزمایش‌ها می‌توان گفت که ممکن است مصرف روغن‌های محیطی که سطح کلسترول و کلسترول استر موجود در گردش سیستمیک را افزایش می‌دهند می‌تواند باعث افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی شود و عبور کلسترول ممکن است از طریق مکانیسم‌های توضیح داده شده در قسمت‌های قبلی انجام شده باشد ولی مطالعات بسیار دیگری برای بررسی این موضوع نیاز است. بررسی سطح لیپیدهای مغزی در این مطالعه فقط در نیمکره راست مغزی مورد بررسی قرار گرفته چرا که مدل ایسکمی کانونی مغزی فقط در نیمکره راست ایجاد شده بود با توجه به این موضوع که تفاوت‌هایی بین نیمکره های راست و چپ مغزی وجود دارد بررسی سطح لیپیدهای مغزی در هر دو نیمکره و مقایسه اینها با هم می‌تواند در مطالعه دیگری مورد بررسی قرار بگیرد.

با قطع کامل جریان خون، فعالیت الکتریکی نورونها متوقف و در عرض چند دقیقه سطح انرژی و هموستازی یونی رو به زوال می‌رود. هر چند در این زمان متابولیسمهای بی هوازی صورت می‌گیرد، اما برای تولید ATP در حدی که سبب حفظ جامعیت غشای نورونی شود کافی نیست. در نتیجه، خالی شدن سلولها از فسفاتهای پر انرژی، به سرعت سبب تخریب عملکرد پمپهای غشایی و ورود یونهای سدیم و کلر به درون سلولها و در نهایت ادم درون سلولی می شود [۱۹]. مکانیسم‌های زیادی برای چگونگی تخریب سد خونی- مغزی پیشنهاد شده است از آن جمله به وجود آمدن شکاف بین سلولهای اندوتلیالی به علت واسطه های التهابی مثل ترومبین که سبب انقباض اندوتلیال می شود. تنظیم مثبت فاکتور رشد اندوتلیالی (VEGF) در طی ایسکمی سبب افزایش هدایت آبی و شکسته شدن اتصال‌های محکم بین سلولهای اندوتلیالی می شود. در ایسکمی آنزیم‌هایی فعال می‌شوند که با هضم غشای پایه سبب فروپاشی جامعیت سد خونی- مغزی می‌شوند که از جمله آنها می‌توان به MMP ها اشاره کرد. همچنین افزایش فعالیت آنزیمهای NOS (چه iNOS و چه nNOS) می‌تواند به سد خونی- مغزی آسیب بزند [۲۱]. روغن زیتون بکر خوراکی، سبب کاهش این نفوذ پذیری و در نتیجه کاهش محتوی آب مغزی می‌گردد. داده های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که روغن زیتون بکر ممکن است بوسیله افزایش جامعیت سد خونی- مغزی هموستازی آب مغزی را حفظ کند. در نتیجه با حفظ این سد میزان ادم مغزی و حجم سکته کاهش پیدا می‌کنند. مکانیسمهای زیادی برای چگونگی تخریب سد خونی- مغزی پیشنهاد شده است از آن جمله به وجود آمدن شکاف بین سلولهای اندوتلیالی به علت واسطه های التهابی است [۲۲]. تغییرات التهابی نورونها در نهایت می‌تواند سبب تخریب سد خونی- مغزی و تشکیل ادم و در نتیجه مرگ سلولی شود.بیان متالوپروتئینازها در مغز طبیعی بالغ بسیار پایین است، به طوریکه قابل تشخیص نیست. اما بسیاری از متالوپروتئینازها در پاسخ به آسیب مغزی افزایش می یابند [۱۵]. مطالعات نشان

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

داده که شکسته شدن سد خونی- مغزی و وقوع هموراژی می‌تواند نتیجه فعال شدن متالوپروتئینازها باشد [۲]. ممکن است روغن زیتون بکر به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه با افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی که نقش زیادی در حفظ جامعیت سد خونی- مغزی دارند باعث ایجاد نوروپروتکشن شود. مهار التهاب توسط ترکیبات فنولی روغن زیتون می‌تواند علت حفظ جامعیت سد خونی- مغزی طی آسیب ایسکمی- خونرسانی مجدد باشد. مثلاً ترکیبات فنولی VOO می‌توانند با مهار فعالیت فاکتور رونویسی NFκB از فعال شدن متالوپروتئیناز-۹ و در نتیجه از تخریب سد خونی-مغزی جلوگیری کنند. همچنین افزایش فعالیت آنزیمهای NOS (چه iNOS و چه nNOS) می‌تواند به سد خونی- مغزی آسیب بزند [۲۱]. مطالعات نشان داده‌اند که تیمار با VOO، سبب کاهش نیتریت-نیترات در مقایسه با گروه شاهد می شود که این اثر VOO بر روی جمع شدن NO، احتمالاً به علت کاهش فعالیت iNOS است [۶]. VOO موجب کاهش امتیازهای نقص نورولوژیکی، حجم سکته، ادم مغزی و نفوذپذیری سد خونی- مغزی حاصل از آسیب ایسکمی-خونرسانی مجدد در محیط *in vivo* و تولید القای تحمل به ایسکمی می شود. در نتیجه VOO می‌تواند یک کاندیدای ایده آل قوی برای پیش درمان ایسکمی مغزی به صورت تنها و یا کمک دارویی برای علم پزشکی باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش به یاری پژوهشکده‌ی گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد و کمال تشکر را از استادان ارجمند این پژوهشکده از جمله دکتر علیرضا قاسمپور، دکتر مهدی مریدی و دکتر فاطمه میرزاجانی را داریم.

References

[1] Adibhatla RM, Hatcher J, Dempsey R, Lipids and Lipidomics in Brain Injury and Diseases. ***AAPS J*** 8 (2006) 314-321.

[2] Ashai M, Wang X, Mori T, Sumii T, Jung JC, Moskowitz MA, Fini ME, Lo EH, Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock- out on the proteolysis of blood- brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. ***J Neurosci*** 21(2002)7724-32.

[3] Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulian B, Asgari AR, Pourkhalili K, and Khoshbaten A, Normobarichyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF-α level. ***Exp Neurol*** 212 (2008) 298-306.

[4] White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman LI, Rafols JA, Krause GS., Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. ***J Neurol Sci*** 179 (2000) 1-33.

[5] Borghini I, Barja F, Pometta D, James RW, Characterization of subpopulations of lipoprotein particles isolated from human cerebrospinal fluid. ***Biochim Biophys Acta*** 1255 (1995) 192-200.

[6] Gonzalez-Correa JA, Navas MD, Lopez- Villodres JA, Trujillo M, Espartero JL, Cruz JP Dietary, Virgin Olive Oil Reduces Oxidative Stress and Cellular Damage in Rat Brain Slices Subjected to Hypoxia- Reoxygenation. ***Lipids*** 42 (2007) 541-7.

[7] Golomb BA, Stattin H, Mednick S, Low cholesterol and violent crime. ***J Psychiatr Res*** 34 **(**2000**)** 301-309.

[8] Jason D, Richard D, and Stephen D, Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood–brain barrier. ***Trends Neurosci*** 24 (2001) 719-725.

[9] Kurban S, Mehmetoglu I, Yilmaz G, Effect of diet oils on lipid levels of the brain rats. ***Ind J Clin Biochem*** 22 (2007) 44-47.

[10] Lipton P, Ischemic cell death in Brain neurons. ***Physiol Rev*** 79 (1999) 1431-1568.

[11] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R, Reversible middle cerebralartery occlusion without craniectomy in rats. ***Stroke*** 20 (1989) 84-91.

[12] Macala LJ, Yu RK, Ando S, Analysis of brain lipids by high performance thin-layer chromatography and densitometry. ***J Lipid Res*** 24 (1983) 1243-1250.

[13] McCord JM, Edeas MA, SOD, oxidative stress and

Downloaded from phypha.ir at 11:04 +0430 on Tuesday August 15th 2017

human pathologies. ***Biomed Pharmacother*** 59 (2005) 139-142.

[14] Mohagheghi F, Bigdeli MR, Rasoulian B, Zeinanloo AA, Khoshbaten A, Dietary virgin olive oil reduces blood brain barrier permeability, brain edema, and brain injury in rats subjected to ischemia-rebbperfusion. ***Sci World J*** 10 (2010) 1180-1191.

[15] Montaner J, Alvarez-Sabin J, Molina C, Angles A, Abilleria S, Arenillas J, Gonzalea MA, Monasterio J, Matrix metalloproteinase expression after human cardioembolic stroke temporal profile and relation to neurological impairment. ***Stroke*** 32 (2001) 1759-1766.

[16] Owen RW, Giacosa A, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H, The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. ***EJC*** 36 (2000) 1235-47.

[17] Panza F, Solfrizzi V, Colacicco AM, Introno AD, Capurso C, Torres F, Del Parigi A , Capurso S and Capurso A, Mediterranean diet and cognitive decline. ***Public Health Nutr*** 7 (2004) 959-63.

[18] Pfrieger FW, Outsourcing in the brain: do neurons depend on cholesterol delivery by astrocytes? ***Bioessays*** 25 (2003) 72-8.

[19] Rami A, Bechmann I, Stehle JH, Exploiting endogenous anti- apoptotic proteins for novel therapeutic strategies in cerebral ischemia. ***Prog Neurobiol*** 85 (2008) 273-296.

[20] Rubin LL, Staddon JM. The cell biology of the blood-brain barrier. ***Annu Rev Neurosci*** 22 (1999) 11-28.

[21] 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*** 76 (2000) 81-86.

[22] Simard JM, Kent TA, Chen M, Tarasov KV, Gerzanich V, Brain oedema in focal ischemia: molecular pathophysiology and theoretical implications. ***Lancet Neurol*** 6 (2007) 258-68.

[23] Traystman RJ, Kirsch JR, and Koehler RC, Oxygen radical mechanism of brain injury following ischemia and reperfusion. ***J Appl Physiol*** 71 (1991) 1185-95.

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

[25] Violi F, Cangemi R, Antioxidants and cardiovascular disease. ***Curr Opin Investing Drugs*** 6 (2005) 895-900.

[26] Virkkunen M, Penttinen H, Serum cholesterol in aggressive conduct disorder: a preliminary study. ***Biol Psychiatry*** 19 **(**1984**)** 435-439.

[27] Visioli F, Poli A, Galli C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. ***Med Res Rev*** 22 (2002) 65-75.

[28] Wang LGU, Schuster K, Hultenby Q, Zhang SA, Gustafsson JA, Liver X receptors in the central nervous system: from lipid homeostasis to neuronal degeneration. ***Proc Natl Acad Sci USA*** 99 (2002) 13878-13883.