

## اثر عصاره خوراکی برگ زیتون بر سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسرید مغزی و ادم مغزی در مدل سکته مغزی موش

زهرا ربیعی: کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. zahrarabiei@ymail.com  
 دکتر محمدرضا بیگدلی: استادیار و متخصص فیزیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. bigdelimohammadreza@yahoo.com  
 فاطمه محقق: کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. f\_mhghgh@yahoo.com  
 دکتر بهرام رسولیان: استادیار و متخصص فیزیولوژی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران. bahramrasoulia@gmail.com  
 \*ابوالقاسم شریفی: کارشناس ارشد آموزش زبان انگلیسی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران (\*مؤلف مسئول). sharifia@skums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۱۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** آسیب مغزی ناشی از ایسکمی گلوبال در اثر ایست قلبی و ایسکمی کانونی مغزی شمار زیادی از بیماران را ناتوان کرده که به صورت مرگ یا به صورت ناتوانی دائمی بوده است. مطالعات اخیر پیشنهاد می کنند که عصاره برگ زیتون باعث سرکوب التهاب و کاهش آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو می شود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی اثر عصاره خوراکی برگ زیتون بر سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسرید مغزی و ادم مغزی در مدل سکته مغزی موش مورد بررسی قرار گرفت. گروه ها، هر کدام شامل ۱۲ موش نر از نژاد ویستار مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه اول، گروه کنترل است که آب مقطر دریافت می کند در حالی که سه گروه تیمار عصاره برگ زیتون را به صورت خوراکی از طریق گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت می کنند (به ترتیب ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و گروه شم که در آن تیمار و القای ایسکمی صورت نمی گیرد. دو ساعت بعد از آخرین گاواژ گروه کنترل، گروه های عصاره برگ زیتون و گروه شم، هر کدام به دو زیر گروه تقسیم می شوند: زیر گروه MCAO (Middle Cerebral Artery Occlusion) که تحت جراحی شریان میانی مغزی قرار می گیرند و برای اندازه گیری میزان ادم مغزی استفاده می شوند (n=6) و زیرگروه برای آنالیز لیپیدهای مغزی که به صورت دست نخورده باقی می ماندند (n=6).

**یافته ها:** عصاره برگ زیتون باعث افزایش سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسرید مغزی در گروه های آزمایشی شد. عصاره برگ زیتون باعث کاهش ادم مغزی در گروه های آزمایشی ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم عصاره می شود.

**نتیجه گیری:** داده های این مطالعه پیشنهاد می کند که عصاره برگ زیتون ممکن است در مدل ایسکمی - خون رسانی مجدد موش اثر محافظت عصبی داشته باشد. کارهای بیشتری نیاز است تا این مشاهدات را تایید کرد.

**کلیدواژه ها:** عصاره برگ زیتون، کلسترول، کلسترول استر، تری گلیسرید، سکته مغزی.

### مقدمه

طی ایسکمی و خون رسانی مجدد (I-R)، وقوع مجموع فرآیندهای سلولی و ملکولی سبب آسیب سلول های عصبی و غیر عصبی و همچنین مویرگ های مغزی می شوند. از جمله این وقایع می توان به سمیت سلولی ناشی از تحریک، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها، التهاب و به دنبال آن ها شکسته شدن سد خونی-مغزی و ایجاد ادم مغزی اشاره کرد.

مطالعات نشان داده اند که عصاره برگ زیتون و ترکیبات آن با مقابله با این فرآیندهای آسیب زنده، سبب القای نوروپروتکشن می شوند. سکته

عامل ناتوانی طولانی مدت و سومین عامل مرگ در ایالات متحده است. تقریباً ۹-۳ میلیون آمریکایی از سکته زنده مانده اند و اثرات ثانوی سکته نیازمند سالانه بیش از ۵۱ میلیون دلار هزینه است. در حال حاضر فعال کننده ی پلاسمینوژن بافتی (Tissue Plasminogen Activator-TPA) تنها دارویی است که برای درمان مرحله حاد ایسکمی به کار می رود و باید در ۳ ساعت بعد از شروع سکته مصرف شود (۱).

با وجود مقاومت زیاد مغز به استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی / خون رسانی مجدد، این عضو آسیب پذیر است. تحریک اکسیتوتوکسیک، تولید

آلثوروپین سبب حفاظت در قبال آسیب اکسیداتیو حاصل از I-R شده، و محتوی پروتئین کربونیل (PC)، که یک بیو مارکر استرس اکسیداتیو است، را پایین می آورد (۵).

عصاره های زیتون غنی از آلثوروپین سبب کاهش سطح کلسترول خون موش ها شده اند، اثری که به توانایی های آن ها برای کاهش پراکسیداسیون لیپید و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نسبت داده می شود (۵). پدیده های متعددی در طی ایسکمی و خون رسانی مجدد دیده می شود که شامل آسیب به لیپیدهای غشا مخصوصاً به صورت لیپولیز در طی ایسکمی و پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده وابسته به رادیکال ها در طی خون رسانی مجدد است (۱). در این مطالعه اثر عصاره برگ زیتون که غنی از ترکیبات پلی فنولی نظیر آلثوروپین است بر سطح لیپیدهای مغزی و آثار نوروپروتکتیو ایجاد شده از طریق تغییر سطح لیپیدهای مغزی و ارتباط آن با میزان ادم مغزی مورد بررسی قرار می گیرد.

نشان داده شده است که تزریق داخل صفاقی تیروزول در ابتدای ایسکمی و خون رسانی مجدد با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم سبب کاهش حجم سخته و بهبود عملکردهای نورولوژیکی پس از القای ایسکمی کانونی درموش های نر می شود. در شرایط فیزیولوژیکی، ترکیبات قطبی مثل رسوراترول نمی توانند به راحتی از سد خونی-مغزی عبور کنند، اما پس از ایسکمی کانونی مغزی، از سد خونی-مغزی شکسته شده می توانند رد شوند. در صورتی که تیروزول از این سد عبور می کند و در آزمایش ها خواص نوروپروتکتیو را نشان می دهد. در واقع تیروزول با فعالیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی خود آثار حفاظتی اش را نشان می دهد (۶).

در مدل ایجاد ادم مغزی در جوندگان ۸ ساعت پس از بستن دائمی شریان میانی مغزی، ادم مغزی بیشتر در ناحیه مجاور کانون سخته دیده می شود. ادم مغزی توسط نیروهای جلوبرنده مثل جریان یون های سدیم و پتاسیم و جریان آب به سمت ناحیه ای که اصلاً خون رسانی نمی شود، جریان می یابد (۷). طبق اصل استارلینگ، درک چگونگی

سوپر اکسید و نیتریک اکسید منجر به تولید محصولات شدیداً واکنشی شامل پراکسی نیتریک و رادیکال های هیدروکسیل می شود که قادرند به لیپیدها، پروتئین ها و DNA آسیب بزنند (۲). محصولات زیتون شامل منبع غنی از پلی فنول ها نظیر اولثوروپین و مشتقات آن شامل هیدروکسی تیروزول و تیروزول که رادیکال های آزاد را جمع می کند و از اکسیداسیون شیمیایی LDL جلوگیری می کند. ترکیب اصلی برگ ها و فرآورده های زیتونی دست نخورده از گونه *Olea europaea*، آلثوروپین است و بسیاری از پلی فنول های یافت شده در روغن زیتون به وسیله هیدرولیز آن به وجود آمده اند.

آلثوروپین خاصیت آنتی اکسیدانی قوی در مقایسه با یک آنالوگ محلول در آب تکوفرول، در محیط *In vitro* دارد. آلثوروپین و متابولیت های اصلی آن تیروزول و هیدروکسی تیروزول به سرعت در خون پخش شده و در ادرار بیشتر به صورت گلوکورونیدها و یا با غلظت های بسیار کم به صورت آزاد دفع می شوند. آلثوروپین آنیون های سوپراکسید و رادیکال های هیدروکسیل را جمع می کند. رادیکال های آزاد اکسیژن از طریق اکسیده کردن LDL و تولید انواع گونه هایی که در دیواره رگ ها با اکسیژن واکنش می دهند، در پاتوژنز آترواسکلروز نقش دارند (۳).

امروزه آثار حفاظتی عصاره برگ زیتون را بیشتر به محتوی بالای ترکیبات پلی فنولی با خاصیت آنتی اکسیدانی آن نسبت می دهند (۳ و ۴). در مطالعه ای مشخص شده که تجویز آلثوروپین از طریق گاواژ با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۳ یا ۶ هفته، آثار ضد ایسکمیک و ضد اکسیداتیو در خرگوش دارد. در این مطالعه مشخص شد که آلثوروپین خاصیت هیپولیپیدمیک هم دارد، به طوری که نه تنها هر دو دوز به مدت ۶ هفته سبب کاهش کلسترول و تری گلیسیرید پلاسما در خرگوش های دچار هایپرلیپیدمی می شود، بلکه در بالاترین دوز مصرف (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) باعث کاهش حجم سخته قلبی در خرگوش ها در محیط *In vivo* نیز می شود. به علاوه در این آزمایش،

۱۲ گاوژ می‌شوند. دو ساعت بعد از آخرین گاوژ در روز سی ام هر گروه به دو زیر گروه تقسیم می‌شود یک زیر گروه MCAO که تحت جراحی شریان میانی مغزی قرار می‌گیرد و برای اندازه‌گیری میزان ادم مغزی استفاده می‌شود (n=۶) و زیر گروه دوم که به صورت دست نخورده باقی می‌ماند و برای آنالیز لیپیدهای مغزی استفاده می‌شود (n=۶). دوزهای انتخابی بر اساس مطالعات انجام شده‌ی قبلی بود (۸).

*ایجاد مدل سکته مغزی (انسداد شریان مرکزی مغزی):* موش‌ها بعد از توزین، با داروی کلرات هیدرات (مرک، آلمان) به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بی‌هوش می‌شدند. جراحی مدل سازی انسداد شریان میانی مغزی یا همان MCAO مطابق دستورالعمل لونگاو همکارانش انجام شد (۹). به طور خلاصه، تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون ۰-۳ از طریق تنه شریان کاروتیدی خارجی (External Carotid Artery -ECA) وارد رگ شریانی راست می‌شد و تا رسیدن به شریان مغزی قدامی (-Anterior Cerebral Artery) از میان شریان کاروتیدی داخلی (Carotid Artery-ICA Internal) با پتری‌گوپالاتین بسته‌ی 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 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 دیجیتال (Geratherm color, Germany) اندازه‌گیری می‌شد و در حدود ۳۷ درجه سلسیوس حفظ می‌شد.

*روش سنجش محتوی آب مغزی:* بعد از جداسازی سر حیوان، مغز خارج می‌شد. مخچه، پل مغزی، و پیازهای بویایی جدا می‌شدند و وزن خالص نیمکره‌های مغز (Wet Weight-WW) اندازه‌گیری می‌شد. سپس وزن خشک (Dry Weight-DW) بعد از قرار گرفتن ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۲۰ درجه اندازه‌گیری می‌شد. در

ایجاد ادم به شناخت دو فاکتور نیاز دارد. فاکتور اول، شیب فشارهای هیدروستاتیک و اسمزی است و فاکتور دوم نفوذپذیری مویرگ‌ها است. عبور و مرور از سلول‌های اندوتلیالی، از طریق کانال‌های یونی، پینوسیتوز و اتصال‌های محکم بین سلول‌های اندوتلیالی صورت می‌گیرد. اختلال در عملکرد هر کدام از این فاکتورها می‌تواند سبب بروز ادم مغزی شود. عصاره برگ زیتون موجب کاهش فعالیت NFκB و کاهش بیان TNFα شد که نشان دهنده مهار التهاب است. همچنین این عصاره سبب کاهش سطح مالون دی‌آلدهید (Malondialdehyde -MDA) که نشانگر پراکسیداسیون لیپید است، هم شده است (۸). در این مطالعه ارتباط بین تغییر سطح کلاسترول، کلاسترول استر و تری‌گلیسرید مغزی در اثر تغذیه با عصاره برگ زیتون و میزان ادم مغزی در مدل سکته مغزی مورد بررسی قرار گرفت.

## روش کار

موش‌های 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 با غذای استاندارد موش‌های صحرائی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران در مدت مطالعه نگهداری شدند.

*آماده سازی (Oleauropeae) OLE:* واریته Sevillano که میزان آلئوروپین در آن ۳۰ درصد است توسط مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی (لرستان، ایران) تهیه شد. پودر OLE در آب مقطر قبل از استفاده حل شد.

موش‌ها به ۴ گروه اصلی تقسیم می‌شوند: گروه کنترل که به مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ آب مقطر دریافت می‌کنند، گروه‌های عصاره (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) که به مدت ۳۰ روز از طریق گاوژ عصاره برگ زیتون را دریافت می‌کنند و گروه شم که در آن تیمار و القای ایسکمی صورت نمی‌گیرد و هر گروه شامل ۱۲ حیوان است که در طی ۳۰ روز در ساعت ۱۱-

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) غوطه ور می شود تا بافر تا ارتفاع ۱۰ سانتی متری پلیت حرکت کند و لپیدها بر روی باندهای جدا در پلیت قرار می گیرند. لپیدهای خنثی روی پلیت با استفاده از معرف کوپریک استات ۳٪ در محلول ۸٪ فسفریک اسید به دنبال حرارت دادن در آن با دمای ۱۷۰-۱۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه ظاهر می شوند و سپس پلیت ها توسط دستگاه اسکنر در طول موج ۳۵۰ نانومتر اسکن می شوند (۱۱).

*آنالیزهای آماری:* تمام آنالیزها با کمک نرم افزار SPSS V.16.0 انجام شد. نفوذپذیری سد خونی - مغزی با استفاده از آزمون آنوای یکطرفه روش مقایسه میانگین ها به روش LSD انجام شد. ارتباط بین سطح لپیدهای 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.

### یافته‌ها

*اثر پیش تغذیه عصاره برگ زیتون بر سطح کلاسترول، کلاسترول استر، تری گلیسرید مغزی و ارتباط آن با ادم مغزی سطح کلاسترول (نانوگرم بر میلی گرم وزن تر مغز) و کلاسترول استر مغزی (نانوگرم بر میلی گرم وزن تر مغز) در گروه های تیمار با ۷۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره برگ زیتون در مقایسه با گروه کنترل بالاتر است. سطح تری گلیسرید مغزی (نانوگرم بر میلی گرم وزن تر مغز) در دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل بالاتر است، در حالی که دوز پایین یعنی ۵۰ میلی گرم بی اثر است. ارتباط معنی داری بین افزایش سطح کلاسترول کلاسترول استر و تری گلیسرید مغزی و کاهش ادم مغزی در گروه عصاره برگ زیتون ۱۰۰ و ۷۵ میلی گرم وجود دارد، ولی ارتباط معنی دار بین افزایش سطح کلاسترول، کلاسترول استر و تری گلیسرید مغزی و ادم مغزی*

نهایت، محتوی آب مغز بر اساس فرمول (WW-)  $[DW]/WW \times 100$  اندازه گیری می شد (۱۰).

*جداسازی، خالص سازی و شناسایی لپیدها:* در پایان روز سی ام تمام موش ها از طریق تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات با دوز ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن کشته شدند و مغزشان بعد از جدا کردن سرشان به سرعت خارج شده و نیمکره‌ی راست مغز از سایر قسمت های مغز مثل نیمکره‌ی چپ و مخچه و پل مغزی جدا شده و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس برای آنالیزهای لپیدی نگهداری شد.

نمونه ی 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 شد. با این روش کل لپیدها از بافت مغزی جداسازی می شدند. بعد از ۸ ساعت نمونه از روی استیرر برداشته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس سوپرناتانت برداشته شده و رسوب باقیمانده و ظرفی که مغز در آن هموزن شده را با ۲ میلی لیتر کلروفورم و متانول با حجم ۱ به ۱ شسته و دوباره سانتریفیوژ کرده و سوپرناتانت را برداشته و با سوپرناتانت اولی ترکیب کرده و در دمای ۴ درجه سلسیوس برای جداسازی و خالص سازی و شناسایی لپیدها نگهداری می شد. جداسازی لپیدها با استفاده از ستون کروماتوگرافی DEAE - sephadex انجام شد. ستون بعد از آماده سازی دو بار با حلال A که شامل کلروفورم، متانول، آب با حجم ۳۰:۶۰:۸ است، شسته شده و لپیدهای خنثی در حلال A جمع آوری گشته که این ها شامل کلاسترول، کلاسترول استر و تری گلیسرید است.

*کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا HPTLC:* لپیدها بر روی پلیت ۱۰ × ۲۰ سیلیکاژل HPTLC ۶۰، (مرک، آلمان) با استفاده از دستگاه HPTLC مدل camag - linomat auto TLC - spotter نقطه گذاری می شود. بعد از اتمام نقطه گذاری پلیت ها در بافری که شامل کلروفورم: متانول، استیک اسید، فرمیک اسید (با حجم ۱:۲:۵:۳۵:۶۵) است، غوطه ور می شود تا بافر تا

بر کیلو گرم عصاره برگ زیتون ( $p=0.002$ )، محتوی آب مغزی را در نیمکره آسیب دیده کاهش دادند و کاهش ادم مغزی در این دو گروه دیده شد. در حالی که در دوز ۵۰ میلی گرم این کاهش معنی دار نبود. همچنین میزان محتوی آب مغزی بین نیمکره های راست و چپ در دوزهای ۵۰ و ۷۵ میلی گرم ( $p<0.001$  و  $p=0.005$  به ترتیب) معنی دار بود، در حالی که در دوز ۱۰۰ میلی گرم اختلافی در میزان آب مغزی بین دو نیمکره وجود نداشت و این مسئله نشان دهنده اثر خوب دوز ۱۰۰ میلی گرم عصاره برگ زیتون در کاهش ادم مغزی بوده است. ارتباط معنی داری بین محتوی آب مغزی در نیمکره آسیب دیده در گروه کنترل و گروه شم وجود دارد ( $p\leq 0.001$ ) (شکل ۱).

### بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه دیده شد که تیمار با عصاره برگ زیتون باعث افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر و تری گلیسیرید مغزی در گروه های آزمایشی می شود. تشکیل ادم بعد از ایسکمی و خون رسانی مجدد با ناتوانی سد خونی - مغزی برای حفظ گرادیان یون ها همراه است. ادم مغزی بعد از ایسکمی و خون رسانی مجدد باعث تخریب سد خونی - مغزی می شود.

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 (۱۲). کلسترول استر مهم ترین حامل و شکل ذخیره ای کلسترول در ذرات لیپوپروتئین و اکثر انواع سلول هاست. سطح کلسترول مغزی از طریق تبدیل کلسترول به  $S-24$  - هیدروکسی کلسترول (24-OH-cho) که از سد خونی - مغزی خیلی راحت تر از کلسترول عبور می کند، تنظیم می شود (۱۳).

در آزمایشی موش 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

جدول ۱. ارتباط بین سطح لیپیدهای مغزی و میزان ادم مغزی در گروه کنترل و دوز ۵۰ میلی گرم عصاره برگ زیتون ارتباط معنی دار بین سطح لیپیدهای مغزی و میزان ادم مغزی\* ( $p<0.05$ ) و  $r^2$  عدد مربوط به

رگرسیون خطی	
ادم مغزی	لیپیدهای مغزی
$R^2 = 0.01$	کلسترول استر
$R^2 = 0.008$	کلسترول
$R^2 = 0.009$	تری گلیسیرید

ارتباط معنی داری بین افزایش سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسیرید مغزی و کاهش ادم مغزی در گروه ۵۰ میلی گرم عصاره برگ زیتون در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد.

جدول ۲. ارتباط بین سطح لیپیدهای مغزی و میزان ادم مغزی در گروه کنترل و دوز ۷۵ میلی گرم عصاره ارتباط معنی دار بین سطح لیپیدهای مغزی و میزان ادم مغزی\* ( $p<0.05$ ) و  $r^2$  عدد مربوط به رگرسیون

خطی	
ادم مغزی	لیپیدهای مغزی
$R^2 = 0.29$ *	کلسترول استر
$R^2 = 0.21$ *	کلسترول
$R^2 = 0.20$ *	تری گلیسیرید

ارتباط معنی داری بین افزایش سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسیرید مغزی و کاهش ادم مغزی در گروه ۷۵ میلی گرم عصاره برگ زیتون در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد.

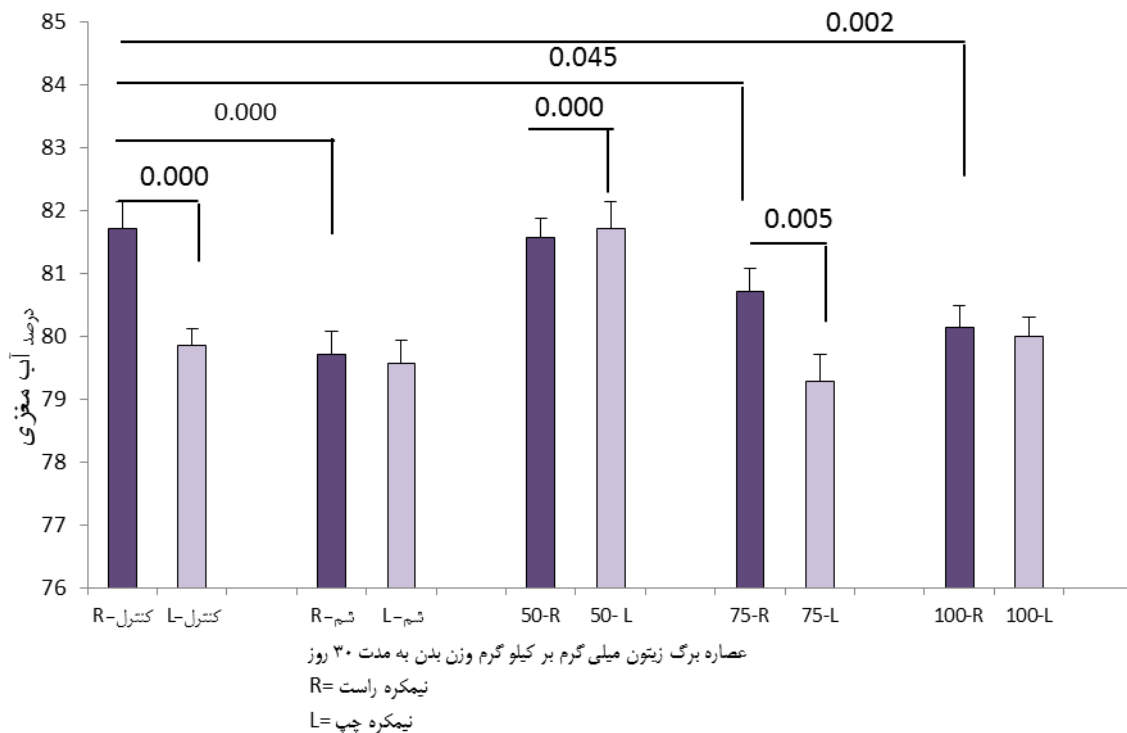
جدول ۳. ارتباط بین سطح لیپیدهای مغزی و میزان ادم مغزی در گروه کنترل و دوز ۱۰۰ میلی گرم عصاره ارتباط معنی دار بین سطح لیپیدهای مغزی و میزان ادم مغزی\* ( $p<0.05$ ) و  $r^2$  عدد مربوط به رگرسیون

خطی	
ادم مغزی	لیپیدهای مغزی
$R^2 = 0.37$ *	کلسترول استر
$R^2 = 0.35$ *	کلسترول
$R^2 = 0.20$ *	تری گلیسیرید

ارتباط معنی داری بین افزایش سطح کلسترول، کلسترول استر و تری گلیسیرید مغزی و کاهش ادم مغزی در گروه ۱۰۰ میلی گرم عصاره برگ زیتون در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد.

در گروه عصاره ۵۰ میلی گرم عصاره وجود ندارد (جدول ۱-۳).

آثار عصاره برگ زیتون بر محتوی آب مغزی: ایسکمی موضعی مغزی سبب افزایش معنی دار آب مغزی در نیمکره آسیب دیده (نیمکره راست) در مقابل نیمکره سالم در گروه شاهد ( $p<0.001$ ) می شود. دوزهای ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره برگ زیتون ( $p=0.045$ ) و ۱۰۰ میلی گرم



شکل ۱. نمودار مقایسه ادم مغزی در گروه های آزمایشی. ایسکمی موضعی مغزی سبب افزایش معنی دار آب مغزی در نیمکره آسیب دیده (نیمکره راست) در مقابل نیمکره سالم در گروه شاهد. دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم عصاره برگ زیتون، محتوی آب مغزی را در نیمکره آسیب دیده کاهش دادند. در حالی که در دوز ۵۰ میلی گرم این کاهش معنی دار نبود. همچنین میزان محتوی آب مغزی بین نیمکره های راست و چپ دوزهای ۵۰ و ۷۵ میلی گرم معنی دار بود، در حالی که در دوز ۱۰۰ میلی گرم اختلافی در میزان آب مغزی بین دونیمکره وجود نداشت. ارتباط معنی داری بین محتوی آب مغزی در نیمکره آسیب دیده در گروه کنترل و گروه شم وجود دارد.

نوروپروتکشن شده و از این طریق باعث افزایش استحکام سد خونی- مغزی در برابر آسیب ایسکمی و خون رسانی مجدد شود و در نتیجه باعث کاهش ادم مغزی شود. ادم مغزی در ابتدا در نواحی پنومبرا که هنوز مقداری خون رسانی می شوند اتفاق می افتد. ادم ایجاد شده باعث تخریب سد خونی-مغزی می شود. شکسته شدن سد خونی-مغزی و وقوع هموراژی می تواند نتیجه فعال شدن متالوپروتئینازهای ماتریکسی (Matrix metalloproteinase-MMPs) باشد (۷). نشان داده شده که MMP ها می توانند سبب مهاجرت نوتروفیل ها به بافت و در نتیجه ایجاد چرخه معیوب برای افزایش التهاب شوند. همچنین MMP ها باعث تخریب پروتئین های مسئول ایجاد اتصالات محکم از جمله اکلودین و کلودین در طی ایسکمی و خون رسانی مجدد می شوند. ترکیبات

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 گروه ها 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 گروه ها بالاتر است به غیر از گروه روغن آفتابگردان و سطح تری گلیسرید مغز در گروه روغن زیتون نسبت به سایر گروه ها به طور چشمگیری بالاتر است به جز گروه روغن سویا (۱۴).

کلسترول برای سنتز غشا و فعالیت های دیگر سلول ها به کار می رود. ممکن است افزایش سطح کلسترول و کلسترول استر مغزی در اثر مصرف روغن زیتون و عصاره برگ زیتون باعث ایجاد

10. Bigdeli MR, Hajizadeh S, Froozandeh M, Heidarianpour A, Rasoulilian B, Asgari AR, et al. Normobarichyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF- $\alpha$  level. *Exp Neurol*. 2008; 212:298-306.

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

12. Dietschy JM, Turley SD. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. *Trends Neurosci*. 2001;24:719-25.

13. Owen RW, Giacosa A, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *EJC*. 2000; 36:1235-47.

14. Kurban S, Mehmetoglu I, Yilmaz G. Effect of diet oils on lipid levels of the brain rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry Indi J Clin Biochem*. 2007;22:44-7.

فنولی عصاره برگ زیتون می‌توانند با مهار فعالیت فاکتور رونویسی NF $\kappa$ B از فعال شدن MMP9 و در نتیجه از تخریب سد خونی-مغزی جلوگیری کنند (۸).

مطالعات زیادی برای مشخص کردن اثر عصاره برگ زیتون در کاهش آسیب‌های ناشی از سکته مغزی نیاز است، ولی عصاره برگ زیتون به دلیل محتوی بالای ترکیبات فنولی یک کاندیدای ایده آل قوی برای پیش درمان ایسکمی مغزی به صورت تنها یا با کمک دارویی برای علم پزشکی باشد.

### منابع

1. Blaine CW, Jonathon MS, Donald JD, Brian JO, Robert WN, Lawrence I, et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *NeuroSci*. 2000;179:1-33.

2. David SW, Huaxin S, Ines BH. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *Exp Boil*. 2004; 207:3221-31.

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

4. Stupans I, Kirlich A, Tuck KL, Hayball PJ. Comparison of radical scavenging effect, inhibition of microsomal oxygen free radical generation, and serum lipoprotein oxidation of several natural antioxidants. *J Agric Food Chem*. 2002;50:2464-9.

5. Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P, et al. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr*. 2006;136:2213-9.

6. Bu Y, Rho S, Kim J, Kim MY, Lee DH, Kim SU, et al. Neuroprotective effect of tyrosol on transient focal cerebral ischemia in rats. *Neurosci Lett*. 2007;414: 218-21.

7. Ashai 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*. 2002 ;21:7724-32.

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;47:235-43.

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

## Effect of dietary olive leaf extract on brain cholesterol, cholesterol ester and triglyceride levels and of brain edema in rat stroke model

**Zahra Rabiei**, MSc. Faculty of Biological Science, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. zahrarabiei@ymail.com

**Mohammad Reza Bigdeli**, PhD. Assistant Professor of Physiology, Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. bigdelimohammadreza@yahoo.com

**Fatemeh Mohagheghi**, MSc. Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. f\_mhghgh@yahoo.com

**Bahram Rasoulian**, PhD. Assistant Professor of Physiology. Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khoramabad, Iran. bahramrasoulian@gmail.com

\***Abulghasem Sharifi**, MA of English Teaching Faculty of Medical Science, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran (\*Corresponding author). sharifia@skums.ac.ir

### Abstract

**Background:** Brain injury by transient complete global brain ischemia (cardiac arrest) and regional incomplete brain ischemia (ischemic stroke) afflicts a very large number of patients with death or permanent disability. Recent studies suggest that olive extracts suppress inflammation and reduce stress oxidative injury.

**Methods:** The aim of the study was to evaluate the effect of dietary Olive Leaf Extract (OLE) on brain cholesterol, cholesterol ester and triglyceride levels as well as brain edema in rat stroke model.

Five groups, each consisting of 12 male Wistar rats, were studied. First and second groups (control and sham) received distilled water, while three treatment groups received oral olive leaf extract (OLE) for 30 days (50, 75 and 100 mg/kg/day, respectively). Two hours after the last dose, each main group was subdivided to Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO)-operated (n=6) and intact subgroups (n=6) for assessment of neuropathology (brain edema) and brain lipid analysis.

**Results:** The brain cholesterol, cholesterol ester and triglyceride levels were greater in experimental groups when compared to controls. Olive leaf extracts reduced brain edema in experimental groups of 75 and 100 mg/kg/day.

**Conclusion:** Our data suggest that OLE may be cerebroprotective in a rat model of ischemia-reperfusion. Further work is required to extend these observations.

**Keywords:** Olive leaf extract, Cholesterol, Cholesterol ester, Triglyceride, Brain stroke.