

اثر عصاره برگ زیتون بر غلظت هورمونهای کورتیکوسترون و دئیدرواپی آندروسترون سرمی بعد از ایجاد هیپوپرفیوژن مغزی در رت های نر

مهرنوش مقدسی^۱، مریم هرمزی^۲، بهرام دلفان^۳، مجید طاعتی^{۴*}، سهیلا پورخداداد^۵، مریم رضایی^۵، لیلا تواضع^۶

۱- استادیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۴- استادیار، دپارتمان پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۵- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۶- دکترای عمومی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته / دوره هفدهم / شماره ۲ / تابستان ۹۴ / مسلسل ۶۴

چکیده

دریافت مقاله: ۹۴/۱/۳۰ پذیرش مقاله: ۹۴/۳/۱۷

*** مقدمه:** هیپوپرفیوژن مزمن مغزی یک مورد پاتوفیزیولوژیک شایع می باشد که معمولاً در شرایطی نظیر دمانس رگی و آلزایمر اتفاق می افتد که هر دوی این بیماریها توسط اختلالات حافظه تشخیص داده می شوند. تشخیص مکانیسمهای مشخص که در سلسله وقایع موجود از هیپوپرفیوژن مزمن تا کاهش حافظه نقش دارد می توانند هدف بالقوه ای برای درمان های موثر باشد هدف از مطالعه حاضر با توجه به اثرات مفید آنتی اکسیدانی و ضد التهابی عصاره برگ زیتون، بررسی اثرات عصاره برگ زیتون بر غلظت هورمونهای کورتیکوسترون و دئیدرواپی آندروسترون (DHEA) سرمی بعد از ایجاد هیپوپرفیوژن مغزی در رت می باشد.

*** مواد و روش ها:** در این تحقیق از ۳۵ راس رت ویستار نر استفاده گردید که به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، هیپوپرفیوژن و گروههای هیپوپرفیوژن گاواژ شده با عصاره برگ زیتون بترتیب با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تقسیم شدند. در گروه هیپوپرفیوژن حیوانات فقط تحت عمل جراحی بستن دائم دو رگ کاروتید به فاصله یک هفته قرار گرفتند و در گروه کنترل حیوانات تحت عمل جراحی کاذب، باز شدن غلاف کاروتید بدون بستن رگ ها، قرار گرفتند. عمل گاواژ حیوانات بمدت ۲۵ روز صورت گرفت. در انتها با ایجاد بیهوشی عمیق در حیوانات نمونه خونی آنها را گرفته و غلظت هورمونهای کورتیکوسترون و DHEA موجود در سرم توسط کیت های الیزا اندازه گیری گردید.

*** یافته ها:** هیپوپرفیوژن مغزی سبب کاهش معنی داری در غلظت کورتیکوسترون سرم در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0/01$)، اما تیمار با عصاره برگ زیتون ۳۰۰ mg/Kg قادر بوده است که میزان کورتیکوسترون را به مقدار طبیعی (گروه کنترل) برگرداند. تفاوت معنی داری در غلظت DHEA بین گروهها مشاهده نشد.

*** بحث و نتیجه گیری:** در این مطالعه عصاره برگ زیتون با دوز ۳۰۰ mg/kg موفق گردیده که از کاهش معنی دار غلظت کورتیکوسترون در نتیجه هیپوپرفیوژن مغزی جلوگیری کند و این نشان دهنده اثر حفاظتی عصاره برگ زیتون بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال می باشد و از آنجایی که عصاره برگ زیتون دارای اثرات مفید با طیف وسیع می باشد برای یافتن مکانیسم دقیق آن پیشنهاد می گردد در تحقیقات آینده عناصر موثره عصاره برگ زیتون بکار برده شود.

*** واژه های کلیدی:** عصاره برگ زیتون، هیپوپرفیوژن مغزی، کورتیکوسترون، دئیدرواپی آندروسترون، حافظه.

*آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: خرم آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده دامپزشکی، دپارتمان پاتوبیولوژی.

پست الکترونیک: Taatimajid@yahoo.com

مقدمه

هیپوپرفیوژن مزمن مغزی یک مورد پاتوفیزیولوژیک شایع می‌باشد که معمولاً در شرایطی نظیر دمانس رگی و آلزایمر اتفاق می‌افتد، هر دوی این بیماریها توسط اختلال شناختی مشخص می‌گردند. کاهش جریان خون مغزی در ارتباط با شدت دمانس می‌باشد. مدل‌های حیوانی پیشنهاد می‌کنند که هیپوپرفیوژن مغزی منجر به کاهش حافظه می‌گردند (۱).

تشخیص مکانیسم‌های مشخص که در سلسله وقایع موجود از هیپوپرفیوژن مزمن تا کاهش حافظه نقش دارد می‌تواند هدف بالقوه‌ای برای درمان‌های موثر باشد. برای این منظور تعدادی از مدل‌های حیوانی معرفی شده است که به دانستن بیشتر مکانیسم آن کمک می‌کند. مطالعات انسداد رگی به منظور ایجاد آسیب‌های ایسکیمیک یا لیگومیک مغز با درجات متفاوت شدت معرفی گردیده‌اند. برای شبیه‌سازی هیپوپرفیوژن مغزی، که در کهنسالی و بیماری آلزایمر رخ می‌دهد، بستن دائمی دو رگ مشترک کاروتید در حیوان آزمایشگاهی رت معرفی گردیده است (۲). از طریق تکنیک‌های پیشرفته علوم اعصاب تنظیم غیر طبیعی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال همزمان با تخریب سلول‌های هیپوکامپ در بیماران آلزایمری مشاهده شده است، چنانچه ترشح بیش از حد گلوکوکورتیکوئیدها همزمان با تخریب سلول‌های هیپوکامپ وجود دارد (۳). در حقیقت دژنراسیون هیپوکامپ یک از خصوصیات بارز و قابل توجه پاتولوژی بیماری آلزایمر می‌باشد (۴). مطالعات حیوانی نشان داده است که افزایش سطح کورتیزول نوروها را به چندین نوع آسیب مستعدتر می‌کند (۵). تعداد قابل توجهی از گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید در هیپوکامپ وجود دارد و تصور می‌شود این ناحیه از مغز پنداشته می‌شود در مکانیسم فیدبک منفی ترشح گلوکوکورتیکوئید نقش دارد (۶).

در مطالعات انجام گرفته، یک ارتباط مستقیم بین مدت زمان بستن رگ کاروتید و افزایش سطح کورتیزول مشاهده گردید که این خود نشانگر ارتباط بین هیپوپرفیوژن مغزی و افزایش ترشح کورتیزول می‌باشد (۷).

از طرفی گزارش شده که غلظت خونی DHEA (دئیدرواپی آندروسترون) هورمون دیگر قشر غده آدرنال، بویژه در افراد مبتلا به آلزایمر، با افزایش سن به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۸). علاوه بر این مطالعات حیوانی متعددی اثرات مفید DHEA را در پیشگیری از فراموشی وابسته به سن نشان داده‌اند (۹،۱۰). هر چند یافته‌های مرتبط با انسان‌ها اثرات متفاوتی را نشان می‌دهد (۱۱،۱۲)، اما به طور کلی با توجه به اثرات مثبت آن، لزوم مطالعات بیشتر کلینیکی و نیز مکانیسم عملکرد آن احساس می‌گردد (۱۳).

با گذشت زمان اثرات درمانی و محافظتی برگ زیتون در زمینه‌های مختلف، برای دانشمندان بیشتر آشکار می‌شود. پژوهش‌های آزمایشگاهی جدید نشان داده‌اند که عصاره برگ زیتون دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد فشارخون و هیپوگلاسمیک می‌باشد (۱۴). علاوه بر آن شواهدی وجود دارد که عصاره مزبور خاصیت ضد دردی داشته و نیز نقش حفاظتی در ایسکمی مغزی دارد (۱۵،۱۶). ال‌توروپتین یکی از انواع پلی‌فنل‌ها است که به مقدار فراوان در برگ زیتون وجود دارد. این ترکیب با پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدهای غشایی، از بیماریهای قلبی و عروقی جلوگیری می‌کند و با گشاد نمودن رگها در بهبود بیماری تصلب شرائین موثر است. دارای خواص ضد آریتمی قلبی است، متابولیسم لیپیدی را بهبود بخشیده، از تخریب آنزیمی جلوگیری نموده و دارای خواص ضدالتهابی می‌باشد (۱۷،۱۸).

تحت عمل جراحی کاذب، باز شدن غلاف کاروتید بدون بستن رگ‌ها قرار گرفتند.

دو هفته بعد از عمل جراحی، عمل گاوژ حیوانات با عصاره برگ زیتون به مدت ۲۵ روز صورت گرفت. در گروه‌های کنترل و هیپوپرفیوژن به جای عصاره برگ زیتون، سرم فیزیولوژی به کار برده شد. در انتها با ایجاد بیهوشی عمیق در حیوانات نمونه خونی آنها را گرفته شد و برای ۱۵-۱۰ دقیقه در آزمایشگاه گذاشته شد تا خون لخته گردد. سپس نمونه را با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ نموده و سرمها را جدا نموده و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه‌گیری فاکتورها توسط تکنیک الایزا نگاه داشته شد. بدلیل نوسانات شبانه روزی غلظت گلوکوکورتیکوئیدها همه نمونه‌های خونی در بعدازظهر گرفته شد.

عمل جراحی

حیوانات با کلرال ئیدرات (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان) و به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند، سپس با تراشیدن موهای ناحیه گردن و ضد عفونی کردن محل (با استفاده از بتادین و الکل) با شرایط استریل و ایجاد یک خط برش طولی در خط وسط گردن، غلاف کاروتید سمت راست را پیدا کرده و با احتیاط عصب واگ را از کاروتید جدا نموده و سپس رگ کاروتید مشترک با نخ بخیه سیلک با شماره ۴ به صورت دائم بسته شد. یک هفته بعد از بهبودی نسبی حیوان رگ دوم کاروتید مشترک آنها نیز به روش مشابه بسته شد. در حیوانات گروه کنترل اعمال ذکر شده انجام گرفت با این تفاوت که رگ‌های کاروتید بسته نشد.

طرز تهیه عصاره برگ زیتون

برگ‌های زیتون در ماه بهمن از باغ ۱۳۰ هکتاری زیتون لشکر ۵۷ خرم‌آباد، جمع‌آوری گردید. برگ‌های جمع‌آوری شده

تحقیقات روی پلی فنل‌های موجود در عصاره برگ زیتون باعث گردید تا ترکیبات ویژه ای مثل اولئوکانتال از روغن زیتون جدا کردند که دارای خواص مشابه با داروی ضد التهاب ایبوبروفن می‌باشد (۱۴) و برای آن نقش محافظتی در برابر بیماریهای نورودژنراتیو مانند آلزایمر ذکر کرده اند (۱۹،۲۰).

هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات هورمونهای کورتیکوسترون و دئیدرواپی آندروسترون موجود در سرم بعد از بستن رگهای کاروتید مشترک به منظور ایجاد هیپوپرفیوژن مغزی می‌باشد و در مرحله بعد بررسی اثرات عصاره برگ زیتون بر میزان هورمون‌های مورد نظر می‌باشد و تا آنجا که مطالعات ما نشان می‌دهد این تحقیق برای اولین بار است که انجام می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از تعداد ۳۵ رت بالغ نر از نژاد ویستار با وزن حدود ۳۰۰-۲۵۰ گرم از موسسه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی استفاده شد. حیوانات در لانه حیوانات با یک دوره ۱۲ ساعته تاریکی-روشنایی و دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتیگراد در تمام مدت مطالعه نگهداری شدند. حیوانات محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. کلیه عملیات آزمایشگاهی روی جانوران با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق علمی و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت.

حیوانات بعد از سازگاری با شرایط لانه حیوانات به ۵ گروه کنترل، هیپوپرفیوژن و گروه‌های هیپوپرفیوژن گاوژ شده با عصاره برگ زیتون بترتیب با دوزهای ۱۰۰ (هیپو+ ۱۰۰)، ۲۰۰ (هیپو+ ۲۰۰)، ۳۰۰ (هیپو+ ۳۰۰) میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان تقسیم شدند.

در گروه هیپوپرفیوژن حیوانات فقط تحت عمل جراحی بستن دو رگ کاروتید قرار گرفتند و در گروه کنترل حیوانات

اندازه گیری دئیدرواپی آندروسترون

میزان DHEA موجود در نمونه توسط کیت الیزا (Abnova, Taiwan) اندازه گیری گردید. کیت مربوطه یک روش ایمونواسی رقابتی برای اندازه گیری کمی DHEA در مایعات بیولوژیک می باشد. این کیت حاوی آنتی بادی پلی کلونال ضد DHEA می باشد که به صورت رقابتی به DHEA موجود در نمونه آزمایش یا استاندارد و یا مولکول DHEA کونژوگه با آلکالین فسفاتاز متصل می گردد. بعد از انکوباسیون همزمان در دمای اطاق، معرف اضافی شسته شده و سوبسترا اضافه می شود. بعد از یک مدت زمان کوتاه انکوباسیون، واکنش آنزیمی متوقف شده و رنگ زرد حاصله توسط یک میکروپلیت ریدر در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده می شود. شدت رنگ حاصله به صورت معکوس متناسب با غلظت DHEA در استانداردها یا نمونه ها می باشد. از دانسیته نوری اندازه‌گیری شده برای اندازه‌گیری غلظت DHEA استفاده می گردد. در این مطالعه نتایج برحسب ng/ml بیان شده اند.

آنالیز آماری

تفاوت بین گروهی بوسیله آزمون Anova یک طرفه و آزمون متعاقب توکی بررسی گردید. $P < 0.05$ در این مطالعه از نظر آماری معنا دار تلقی گردید. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده اند.

یافته‌ها

کورتیکوسترون

نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که هیپوپرفیوژن مغزی سبب کاهش معنی داری در غلظت کورتیکوسترون سرم در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0.01$)، اما تیمار با عصاره برگ زیتون ۳۰۰ mg/Kg بر خلاف سایر دوزهای زیتون (۱۰۰ و ۲۰۰

در سایه خشک شده و در کیسه‌های پلاستیکی در محل خنکی ذخیره شدند.

برای تهیه عصاره با خلوص بیشتر اولئوروپئین از برگهای زیتون، برگهای خشک شده توسط آسیای الکتریکی مدل sunny SC80 پودر شد و سپس دقیقاً صد گرم از پودر حاصله به بطری شیشه‌ای درب دار منتقل و ۱۰۰ میلی لیتر حلال استخراج (اتانل ۷۰٪) به آن اضافه شد. سپس بطری حاوی نمونه و حلال به مدت ۴ ساعت گذاشته و سپس با استفاده از دستگاه روتاری مدل Rontgen, Germany حلال جدا و سپس با استفاده از فریز درایر مدل Hidolf, Germany پودر خشک تهیه گردید. جهت استفاده در آزمایشات هر بار مقدار مورد نظر عصاره وزن و در سرم فیزیولوژیک حل شد.

اندازه گیری هورمونها

اندازه گیری کورتیکوسترون

پس از دفریز کردن نمونه، میزان کورتیکوسترون آن توسط کیت الیزا (DRG, USA) طبق پایه باند شدن رقابتی اندازه گرفته شد. در روش مزبور در ابتدا مقدار ناشناخته از کورتیکوسترون موجود در سرم با مقدار مشخص از کورتیکوسترون کونژوگه شده به پراکسیداز ترب کوهی (HRP)، برای مکانهای اتصالی چاهک‌های پوشانده شده با آنتی سرم کورتیکوسترون رقابت می کنند. در مرحله بعدی میکروپلیت را بر روی شیکر انکوبه نموده و سپس به تعداد ۴ بار شسته می‌شود. بعد از اضافه کردن محلول سوبسترا غلظت کورتیکوسترون که به صورت معکوس متناسب با دانسیته نوری اندازه‌گیری شده در طول موج ۴۵۰ نانومتری باشد، اندازه‌گیری می‌گردد. در این مطالعه غلظت کورتیکوسترون بر اساس واحد Pg/ml بیان گردیده است.

سرم در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری کاهش یافته است و عصاره برگ زیتون با دوز 300 mg/Kg موفق گردیده است که این مقدار را به مقدار کنترل برساند و غلظت هورمون DHEA در نتیجه هیپوپرفیوژن و یا تیمار با عصاره برگ زیتون تفاوت معنی داری ننمود.

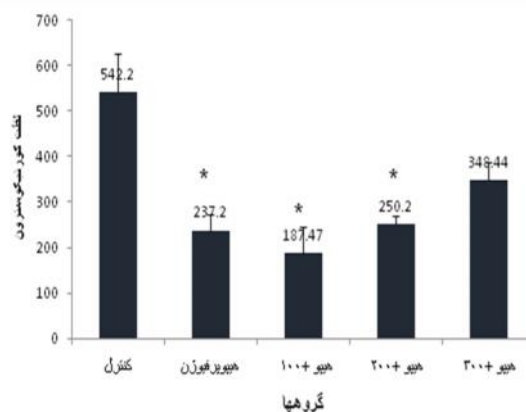
گلوکوکورتیکوئیدها در تثبیت حافظه و تبدیل حافظه کوتاه مدت به طولانی مدت نقش مهمی را ایفا می کنند (۲۱). اما تحت بعضی شرایط استرس آور، فعال شدن بیش از اندازه محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و بدنبال آن ترشح غیر طبیعی کورتیزول می تواند منجر به دژنراسیون سیناپس‌ها و نیز نورونی در هیپوکامپ گردد و با توجه به اهمیت هیپوکامپ در فرآیندهای یادگیری و حافظه، بالطبع سبب کاهش یادگیری و حافظه در بیماری‌های وابسته به سن شود (۲۲). تغییرات محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و افزایش ترشح کورتیزول همچنین از اولین تغییرات ایجاد شده بعد از ایسکمی مغزی می باشد (۲۳). تعدادی از مطالعات به این یافته رسیده اند که افزایش سطح کورتیزول پلاسما یا ادرار در استروک‌های ایسکمیک حاد در ارتباط با شدت بیشتر استروک، حجم بیشتر انفارکتوس / یا برون ده نامطلوب از جمله مرگ می باشد (۲۴-۲۳).

در تعدادی از کارهای تحقیقاتی انجام شده، دانشمندان متوجه گردیده اند که استرس مزمن سبب کاهش غلظت کورتیکوسترون بعد از عمل جراحی شده است و نویسندگان به این نتیجه رسیده اند که افزایش حساسیت هیپوتالاموس به فیدبک منفی ارائه شده توسط کورتیکوسترون سبب کاهش غلظت کورتیکوسترون گردیده است. در فرضیه جدید کاهش و افزایش کورتیزول هر دو می تواند پاسخی به استرس باشد (۲۷-۲۹). فرضیه دیگر برای توضیح کاهش غلظت کورتیکوسترون می تواند آسیب به سلولهای هیپوتالاموس و یا هیپوفیز در نتیجه هیپوپرفیوژن مغزی می باشد که در نتیجه آن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال آسیب می بیند. در این مورد

قادر بوده است که میزان کورتیکوسترون را به مقدار طبیعی (گروه کنترل) نزدیکتر کند به طوری که تفاوت میزان کورتیکوسترون در این گروه با گروه کنترل غیرمعنی دار بود (نمودار ۱).

دئیدرواپی آندروسترون (DHEA)

همانطور که نمودار ۲ نشان می دهد تفاوت معنی داری در غلظت DHEA بین گروهها مشاهده نشد.



نمودار ۱. اثر هیپوپرفیوژن مغزی و عصاره برگ زیتون بر غلظت کورتیکوسترون در رت ۴۰ روز بعد از عمل جراحی در رت‌های نر. $P < 0.01$ * تفاوت معنی دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان می دهد.



نمودار ۲. اثر هیپوپرفیوژن مغزی و عصاره برگ زیتون بر غلظت دئیدرواپی آندروسترون ۴۰ روز بعد از عمل جراحی در رت‌های نر.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به یافته های بدست آمده در این تحقیق مشخص گردید که برخلاف انتظار در گروه هیپوپرفیوژن میزان کورتیکوسترون

انسانها باشد (۳۸). معمولاً DHEA اثرات ضد کورتیزول را از خود نشان می‌دهد. بنابراین نسبت بین ترشح کورتیزول و DHEA به نظر می‌رسد بسیار مهم در مطالعه فیزیولوژی و پاتولوژی مغز در هنگام کهنسالی باشد (۳۶). به علاوه مطالعات انجام شده و نیز داده‌های بدست آمده در این تحقیق حاکی بر جدایی واضح طرح ترشحاتی قسمت قشری غده آدرنال می‌باشد و این انفکاک پذیری در شرایط پاتولوژیک حتی واضحتر می‌باشد (۳۶).

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که عصاره برگ زیتون در دوز ۳۰۰ mg/kg موفق شده است که غلظت کورتیکوسترون کاهش یافته در نتیجه هیپوپرفیوژن مغزی را به مقدار نرمال خود برساند و از آنجایی که عصاره برگ زیتون دارای اثرات مفید با طیف وسیع می‌باشد برای یافتن مکانیسم دقیق آن پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آتی، عناصر موثره عصاره برگ زیتون بکار برده شود و نیز توصیه می‌گردد از حیوانات مسن تر استفاده شود. مطالعه حاضر می‌تواند آغازی برای تحقیقات جهت بررسی عصاره برگ زیتون و ترکیبات موثره آن بر سلسله وقایع ایجاد شده در نتیجه هیپوپرفیوژن مغزی باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی لرستان در قالب طرح تحقیقاتی انجام گرفته است. بدین وسیله از ریاست محترم مرکز داروهای گیاهی رازی جهت در اختیار گذاشتن بودجه لازم جهت اجرای طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌گردد.

مطالعات هیستولوژیک می‌تواند به روشن شدن موضوع کمک کند. در هر دو حالت فوق به نظر می‌رسد که عصاره برگ زیتون با توجه به طیف وسیع اثرات مثبت آن نقش قابل توجهی در حفاظت این محور داشته است.

از طرف دیگر در نتایج پیشین ذکر شده که رابطه بین غلظت کورتیکوسترون و حافظه یک رابطه U شکل وارونه می‌باشد، بدین ترتیب که افزایش و یا کاهش غلظت آن در مقایسه با مقدار طبیعی می‌تواند به کاهش حافظه منجر گردد (۳۰،۳۱). بنابراین کاهش غلظت کورتیکوسترون در نتیجه هیپوپرفیوژن مغزی می‌تواند از جمله مکانیسم‌هایی باشد که منجر به کاهش حافظه در این مدل معرفی شده، می‌گردد.

DHEA به عنوان یک نورواستروئید در نظر گرفته می‌شود که در غلظت‌های کم میکرومولار به عنوان آنتاگونیست رقابتی گیرنده های $GABA_A$ عمل نموده (۳۲) و از طریق افزایش بقای سلولهای عصبی و گلیال سبب افزایش یادگیری و حافظه شده و اثرات ضد پرخاشجویانه را نشان می‌دهد (۳۲،۳۳). میزان ترشح DHEA در طول زندگی دستخوش تغییرات فیزیولوژیک می‌گردد، بطوریکه در محدوده سنی ۸۰-۷۰ سال سطح پلاسمایی DHEA حدود ۲۰ الی ۳۰ درصد سطح پلاسمایی افراد جوان می‌باشد (۳۴،۳۵). در بعضی از شرایط پاتولوژیک وابسته به سن مانند دمانس وابسته به کهنسالی، بیشتر شواهد حاکی از افت بیشتر غلظت DHEA در مقایسه با گروه کنترل همسن می‌کند (۳۶). به علاوه آزادسازی نورآدرنژیک ایجاد شده توسط NMDA در هیپوکامپ رت ممکن است توسط DHEA افزایش یابد (۳۷). این عمل همراه با خصوصیت پروسروتونرژیک DHEA می‌تواند مسئول اثرات ضد افسردگی و بهبودی حافظه گزارش شده بعد از تجویز DHEA در

References

1. Liu H, Zhang J, Zheng P, Zhang Y. Altered expression of MAP-2, GAP-43, and synaptophysin in the hippocampus of rats with chronic cerebral hypoperfusion correlates with cognitive impairment. *Mol Brain Res*. 2005;139: 169 - 177.
2. Farkas E, Luiten PGM, Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev*. 2007; 54:162-180.
3. Seckl JR, French KL, O'Donnell D, Meaney MJ, Nair NP, Yates CM, Fink G. Glucocorticoid receptor gene expression is unaltered in hippocampal neurons in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res*. 1993; 18: 239-245.
4. Markesbery WR. Neuripathological criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 1997;18: S13-19.
5. Sapolsky RM, Krey L, McEwen BS. Prolonged glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: Implications for aging *J Neurosci*. 1985; 5: 1221-1227.
6. Umegaki H, Ikari H, Nakahata H, Endo H, Suzuki Y, Ogawa A, Nakamura A, Yamamoto T, Iguchi A. Plasma cortisol levels in elderly female subjects with Alzheimer's disease: a cross-sectional and longitudinal study. *Brain Res*. 2000; 881: 241-243.
7. Kazmierski J, Kloszewska I. Is cortisol the key to the pathogenesis of delirium after coronary artery bypass graft surgery. *Crit Care*. 2011; 15(1):102.
8. Vermeulen A. Dehydroepiandrosterone sulfate and aging. *Ann NY Acad Sci*. 1995; 774: 121-127.
9. Baulieu EE. Dehydroepiandrosterone (DHEA): a fountain of youth? *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81: 3147-3151.
10. Vilee M, Mayo W, Moal M. Role of pregnenolone, dehydroepiandrosterone and their sulfate esters on learning and memory in cognitive aging. *Brain Res Rev*. 2001; 37: 301-312.
11. Wolf OT. Cognitive functions and sex steroids *Ann Endocrinol*. 2003; 64: 158-161.
12. Wolkowitz OM, Kramer JH, Reus VI, Costa MM, Yaffe K, Walton P, et al. DHEA treatment of Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled study *Neurology*. 2003; 60: 1071-1076.
13. Mo Q, Lu S, Hu S, Simon NG. DHEA and DHEA sulfate differentially regulate neural androgen receptor and its transcriptional activity. *Molecular Brain Res*. 2004; 126: 165-172.
14. El NS, Karakaya S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutr Rev*. 2009; 67: 632-638.
15. Esmaeili-Mahani S, Rezaeezadeh-Roukerd M, Esmaeilpour K, Abasnejad M, Rasouljan B, Sheibani V, Kaeidi A, Hajializadeh Z. Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract elicits antinociceptive activity, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats. *J Ethnopharmacol*. 2010; 132:200-205.
16. Mohagheghi F, Bigdeli MI, Rasouljan B, Hashemi P, Rashidipour M. 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;15:170-175.
17. Lockyer S, Corona G, Yaqoob P, Spencer JP, Rowland I. Secoiridoids delivered as olive leaf extract induce acute improvements in human vascular function and reduction of an inflammatory cytokine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *Br J Nutr*. 2015; 8:1-9.
 18. 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 suppress inflammatory response in rabbits with experimental atherosclerosis. *Eur J Nutr*. 2008; 47(5): 235-243.
 19. Rodríguez-Morató J, Xicota L, Fitó M, Farré M, Dierssen M, de la Torre R. Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. *Molecules*. 2015;20(3):4655-4680.
 20. Rigacci S. Olive Oil Phenols as Promising Multi-targeting Agents Against Alzheimer's Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2015;863:1-20.
 21. Yirmiya R. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2011; 25:181-213.
 22. Nichols NR, Zieba M, Bye N. Do glucocorticoids contribute to brain aging? *Brain Res Rev*. 2001; 37:273-286.
 23. Zi WJ, Shuai J. Cortisol as a Prognostic Marker of Short-Term Outcome in Chinese Patients with Acute Ischemic Stroke. *PLoS ONE* 2013; 8(9): e72758.
 24. Christensen H, Boysen G, Johannesen HH. Serum-cortisol reflects severity and mortality in acute stroke. *J Neurol Sci*. 2004; 217: 175-180.
 25. Anne M, Juha K, Timo M, Mikko T, Olli V. Neurohormonal activation in ischemic stroke: effects of acute phase disturbances on long-term mortality. *Curr Neurovasc Res*. 2007; 4:170-175.
 26. Slowik A, Turaj W, Pankiewicz J, Dziedzic T, Szermer P. Hypercortisolemia in acute stroke is related to the inflammatory response. *J Neurol Sc*. 2002; 196:27-32.
 27. Heim C, Ehlert UM, Hellhammer DH. The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Sychoneuroendocrinology*.2000;25: 1-35.
 28. Hellhammer DH, Wade S. Endocrine correlates of stress vulnerability. *Psychother Psychosom*.1993; 60:8-17.
 29. Huisman HW, van Rooyen JM, Malan NT, Eloff FC, Malan L, Laubscher PJ, Schutte AE. Prolactin, testosterone and cortisol as possible markers of changes in cardiovascular function associated with urbanization. *J Human Hyper*. 2002; 16: 829-835.
 30. Diamond DM, Bennett MC, Fleshner M, Rose GM, Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation *Hippocampus*. 1992; 2: 421-430.

31. Wolf O, Kirschbaum C. Actions of dehydroepiandrosterone and its sulfate in the central nervous system: effects on cognition and emotion in animals and humans. *Brain Res Rev.* 1999; 30:264-288.
32. Majewska MD Neuronal actions of dehydroepiandrosterone. Possible roles in brain development, aging, memory, and affect, in: Bellino FL, Daynes RA, PJ. Hornsby RA, Lavrin DH, Nestler JE. (Eds.), *Dehydroepiandrosterone (DHEA) and Aging Ann NY Acad Sci.* 1995; 774: 111-120.
33. Roberts E, Bologna L, Flood JF, Smith GE Effects of dehydro epinadrosterone and its sulfate on brain tissues in culture and on memory in mice *Brain Res.* 1987; 406:357-362.
34. Belanger A, Candas B, Dupont A, Cusan L, Diamond P. Gomez JL, Labrie F. Changes in serum concentrations of conjugated and unconjugated steroids in 40- to 80-year-old men *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; 79: 1086-1090.
35. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood *J Clin Endocrinol Metab.* 1984; 59: 551-555.
36. Ferrari E, Casarotti D, Muzzoni B, Albertelli N, Cravello L, Fioravanti M, Bruno Solerte S, Magri F. Age-related changes of the adrenal secretory pattern: possible role in pathological brain aging. *Brain Res Rev.* 2001; 37: 294-300.
37. Monnet FP, Mahe V, Robel P, Baulieu E E Neurosteroids, via sigma receptors, modulate the [H]norepinephrine release evoked by N-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92 (9): 3774-3778.
38. Wolkowitz OM, Reus VI, Roberts E, Manfredi F, Chan T, Ormitson S, Johnson R, Canik J, Brizendine L, Weingartner H, Antidepressant and cognition-enhancing effects of DHEA in major depression *Ann NY Acad Sci.* 1995; 774; 337-339.