مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل

دوره چهاردهم، شمارهٔ ۵، شهریور ۱۳۹۱، صفحه ۵۵-۴۹

تاثیر روغن زیتون بر کورتکس تمپورال مغز بدنبال ایسکمی – ریپرفیوژن

محمد زمانی (MSc)[۱]، مجید کاتبی (PhD)[۲]، جلال حسن شاهی (MSc)[۳]، فهیمه زمانی(BSc)[۴]، منصوره سلیمانی (PhD)[۱]

۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- مرکز تحقیقات سلول های بنیادی و سلول درمانی خلیج فارس

۳- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- بیمارستان الزهرا اصفهان

دریافت: ۹۰/۱۰/۱۰، اصلاح: ۹۰/۱۱/۱۹، پذیرش: ۹۱/۲/۱۳

خلاصه

سابقه و هدف: استفاده از آنتی اکسیدان ها برای پیشگیری و درمان عوارض ایسکمی ها بخصوص در مغز مورد توجه و استفاده می باشد. مطالعات استفاده از آنتی اکسیدان ها را برای کاهش مرگ و میر سلولی ناشی از ایسکمی، در مغز موثر نشان دادند. این مطالعه به منظور بررسی اثرات روغن زیتون بر کاهش میزان مرگ و میر سلولهای تمپورال کورتکس تمپورال مغز بعد از القای ایسکمی و ریپرفیوژن انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه از ۲۱ سر موش سوری نر بالغ نژاد bulb-c با وزن ۴۰-۳۵ گرم استفاده شد. موشها به سه گروه ۷ تایی سالم، ایسکمی کنترل و تحت درمان تقسیم شدند. روغن زیتون (۱۸۰ میکرولیتر) قبل از درمان به مدت یک هفته به صورت گاواژ به موش ها داده شد. سپس ایسکمی در لوب تمپورل مغز با بستن شریان کاروتید مشترک (۱۵ دقیقه) ایجاد شد و بعد از آن با کاهش التهاب ناحیه ایسکمیک (به مدت یک هفته)، مجددا روغن زیتون به مدت یک هفته به موشها داده شد. سپس بررسی های سلولی با روش های رنگ آمیزی نیسل و تست تانل انجام شد.

یافته ها: مرگ سلولی در ناحیه کورتکس تمپورال در نمونه های ایسکمی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت. افزایش ۳۵-۳۰ سلول سالم در گروه درمان نسبت به گروه ایسکمی ($p<۰/۰۵$). میزان مرگ و میر سلولی در گروه تحت درمان نسبت به گروه ایسکمی کاهش معنی داری داشت. در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل کاهش حدود ۵۵-۵۰ سلول مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف روغن زیتون بعد از ایسکمی مغزی می تواند مرگ سلولی بدنبال آسیب ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن را در حد چشمگیری کاهش دهد.

واژه های کلیدی: لوب تمپورال، ایسکمی – ریپرفیوژن، موش، اثرات نوروپروتکتیو، روغن زیتون.

مقدمه

مغز انسان دارای ۱۰ میلیارد سلول عصبی است که نورون نامیده می شوند. سلول های گلیال به عنوان سیستم حمایت کننده مغز عمل می کند. مغز حاوی رگ های خونی و اندامک های ترشحی می باشد و به عنوان سیستم کنترل مرکزی برای حرکت، خواب، گرسنگی و تشنگی عمل می کند. تمام عملکرد های مغز برای زنده ماندن ضروری هستند. احساساتی مثل عصبانیت، ترس، لذت بردن، عشق و شادی در درون مغز قرار دارند و توسط مغز کنترل می شوند. بعلاوه مغز محل تفسیر سیگنالهایی است که از محیط دریافت می شوند. مغز به سه قسمت عمده مغز پیشین، مغز میانی و مغز عقبی تقسیم می شود (۱). کورتکس نیمکره های مغزی را احاطه می کند که چند لایه بوده و در بازخوانی یک فکر یا تصویر از حافظه نقش دارد. این ساختار چند لایه شامل یک مقدار بزرگ از شیارها هست. این نوع ساختار باعث افزایش سطح کورتکس می شود. در حقیقت به دلیل طراحی پر پیچ و خم، سطح کورتکس سه برابر شده است (۲). قشر مغز به عنوان ماده خاکستری شناخته می شود. نورون های قشر مغز با دیگر نورون ها از طریق آکسونها که در زیر قشر مغز ماده سفید را تشکیل می دهد، در ارتباط هستند. در مسیر تکامل، عملکرد هر نیمکره تکامل پیدا کرده است. تفاوت های ذهنی و احساسی بین زنان و مردان در نتیجه عملکردهای بین دو نیمکره می باشد. در بیشتر موارد نیمکره چپ، نیمکره غالب مغز است. سطح نیمکره های مغز به چهار لوب فرونتال، پاریتال، تمپورال و اکسیپیتال تقسیم شده است (۳). به کاهش میزان

▣ این مقاله حاصل پایان نامه محمد زمانی، دانشجوی کارشناسی ارشد آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تهران می باشد.

*مسئول مقاله:

آدرس: دانشگاه علوم پزشکی تهران- پردیس همت، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، تلفن: ۸۶۷۰۴۷۲۰-۰۲۱

Email: mansourehsoleimani@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]

متابولیت های مغزی در اثر کاهش جریان خون، ایسکمی مغزی می گویند که منجر به کاهش ذخیره اکسیژن یا هایپوکسی مغزی و در نتیجه مرگ بافت مغزی یا سکته مغزی می شود (۵و۴). از عوامل بوجود آورنده ایسکمی می‌توان به: آترواسکلروز، لخته خون، انقباض عروق، اختلالات مادرزادی قلبی، آمبولیسم، ضربه به سر، فشار پایین خون، آنمی داسی شکل، خفگی، تاکی کاردی و برخی از تومورها و... اشاره کرد (۸-۶). یکی از مهم‌ترین انواع ایسکمی، ایسکمی مغزی است.

آسیب های ایسکمی مغزی به دنبال تغییر ارتباطات ساده بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، موجب اختلال در جریان خون می شود. این تغییرات شامل: کاهش عوامل پرانرژی، اسیدوز ناشی از تولید بی هوازی لاکتات وعدم جریان مجدد خون در اثر تورم آستروسیتها و فشار به عروق مغزی است (۹). ایسکمی مغزی بعد از سرطان و سکته قلبی، از دلایل عمده مرگ و میر در جهان و اولین عامل ازکار افتادگی افراد بالاتر از ۶۵ سال است.

آسیب های ریپرفیوژن در اثر بازگشت مجدد خون به بافت پس از یک دوره ایسکمیک ایجاد می شود، کاهش اکسیژن و مواد مغذی در خون وضعیتی را ایجاد می کند که در آن بازگشت جریان خون بجای بازگشت فعالیت نرمال بافت باعث التهاب و آسیب های اکسیداتیو می شود. این رویداد از طریق القای استرس اکسیداتیو ایجاد می شود (۱۱و۱۰). بعد از برقراری جریان خون مغزی به دنبال رفع انسداد، جریان بازگشتی باعث بازگشت اکسیژن در سلولها می شود که این حالت منجر به آسیبهای ناشی از تولید و تهاجم رادیکالهای سوپرا اکسید می گردد و می تواند بر روی سلولها تاثیر گذاشته و باعث نکروز و آپوپتوز بافتی گردد.

ایسکمی باعث کاهش غلظت اکسیژن در سلول ها و در نتیجه کاهش (Adenosin Three Phosphate, ATP) در آنها می شود. در این حالت سلول برای بقای خود از تنفس بی هوازی برای تولید ATP استفاده می کند. این امر باعث تجمع لاکتات و سپس اسیدوز و مرگ سلول می شود. در حین ریپرفیوژن، رادیکال های آزاد اکسیژن و سایر اکسیداتیوها تشکیل می شوند که باعث تخریب سلول با شدت بیشتری نسبت به ایسکمی می شود. کاهش اثرات ایسکمی به مداخلات سریع پزشکی برای کاهش نکروز و آپوپتوز بستگی دارد. یکی از راههایی که می توان به کمک آن، اثرات سوء ناشی از ایسکمی را در مغز کاهش داد، استفاده از آنتی اکسیدان ها است (۱۲). اکسیداسیون فرآیندی است که در آن اکسیدانت ها می تواند در بدن با چربی های اشباع واکنش داده و با تولید رادیکال های آزاد (پراکسیدها) باعث تخریب غلاف میلین، لیپیدها وتخریب ماده وراثتی و سایر ترکیبات غشایی شوند. اما با مصرف روغن زیتون به علت وجود اتصالات دوگانه در اسیدهای چرب موجود در آن و عمل حفاظتی ضد اکسیدان روغن زیتون، رادیکال‌های آزاد نمی‌توانند زیان وارد نمایند (۱۴و۱۳).

مواد آنتی اکسیدان موجود در روغن زیتون، مقاومت سلول‌ها را در برابر اکسیداسیون افزایش می دهد، همچنین روغن زینون به علت داشتن اسیدهای چرب غیراشباع می تواند میزان کلسترول را کاهش داده و به این ترتیب از رسوب کلسترول در رگ‌ها جلوگیری کند (۱۶و۱۵). آنتی اکسیدان ها موادی هستند که با حذف رادیکال های آزاد و ترکیبات ناشی از صدمات سلولی، مانع آسیب به سلولهای سالم بخصوص در قسمت غشای سلولی و DNA شده و با این مکانیزم مانع مرگ سلولها می شوند. رادیکال های آزاد بطور طبیعی در بدن تولید می شوند. عوامل محیطی نیز مانند دود سیگار و آلودگی هوا و اشعه های یونیزه کننده نیز از منابع مهم تولید رادیکال های آزاد در بدن هستند (۱۷).

روغن زیتون حاوی اسیدهای چرب غیراشباع مثل اسید اولئیک و اسید لینولئیک، ویتامین E و پلی فنول ها می باشد. از آنجاییکه نورون های موجود در ناحیه تمپورال از حساسیت فوق العاده بالاتری در برابر هیپوکسی برخوردارند و در برابر تجمع رادیکال های آزاد به دنبال عواملی مثل ایسکمی – ریپرفیوژن در این ناحیه فوق العاده آسیب پذیرند، این مطالعه به منظور بررسی اثرات آنتی اکسیدانی روغن زیتون و تاثیرات درمانی آن بر کاهش میزان مرگ و میر نورونهای تمپورال مغز بعد از القای ایسکمی و نهایتا کاهش عوارض متعاقب آن انجام شده است.

مواد و روشها

حیوانات: در این تحقیق تعداد ۲۱ سر موش سوری نر بالغ (با سن ۴ هفته ای) نژاد bulb-c با وزن ۴۰-۳۵ گرم از موسسه رازی ایران خریداری شد. موش ها در یک اتاق مخصوص در دمای ۱C±۲۱ (بارطوبت ۵۰-۱۰٪) ودر یک سیکل ۲۴ ساعته که ۱۲ ساعت در نور و ۱۲ ساعت در تاریکی قرار داشتند و به آب و غذای مناسب *دسترسی داشتند*، نگهداری شدند.

گروهها: موش ها بطور تصادفی به سه گروه ۷ تایی، سالم، (بدون القای ایسکمی)، بدون دریافت دارو(گروه ایسکمی کنترل) و گروه درمان تقسیم شدند. روغن زیتون خالص توسط دستگاهی که جهت استخراج روغن تنها از فشار بهره می جوید، تهیه شد.۱۸۰ میکرولیتر روغن زیتون خالص به صورت گاواژ ابتدا یک هفته قبل از القای ایسکمی به موش ها فقط گروه درمان با روغن زیتون داده شد و بعد ایسکمی در لوب تمپورال مغز توسط بستن شریان کاروتید مشترک (۱۵ دقیقه) ایجاد شد. بعد از یک هفته تا کاهش التهاب مجددا برای مدت یک هفته به آنها روغن زیتون داده شد. بعد از دو هفته بعد از القای ایسکمی مغز برای مطالعات میکروسکوپی آماده شد که شامل رنگ آمیزی نیسل، تست تانل بود.

رنگ آمیزی نیسل: این روش برای بیان اجسام نیسل در سیتوپلاسم نورون ها مورد استفاده قرار می گیرد. اجسام نیسل به رنگ بنفش –آبی در می آیند. این لکه ها معمولا برای شناسایی ساختار پایه ای نورون از نورون های نکروز در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می شود (۱۸).

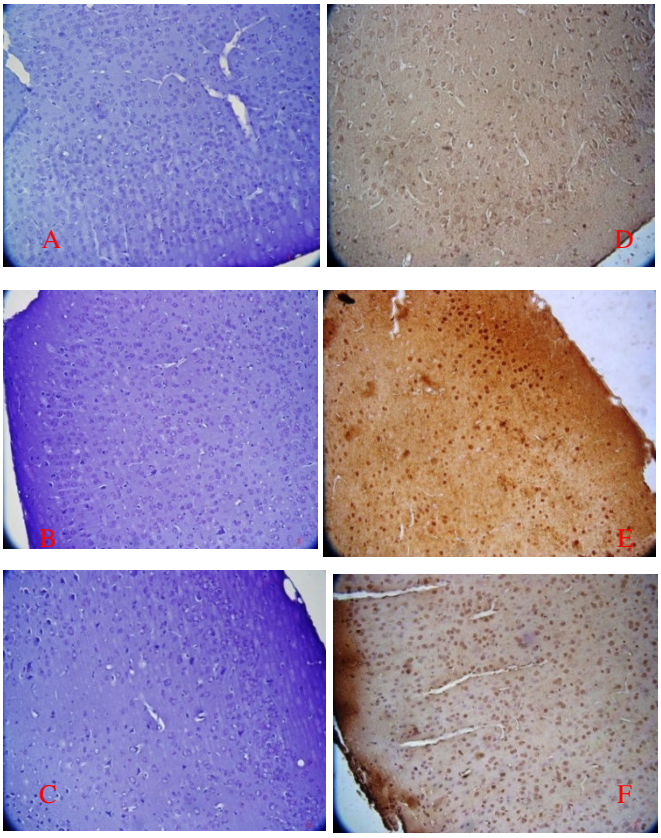
تست تانل: مطالعه تشخیص آپپتوز تانل یکی از محصولات معرفی شده جدید GenScript است. این کیت می تواند قسمت های مختلف DNA هسته را در آپوپتوز تشخیص دهد. با استفاده از روش تانل، نوکلئوتید نشاندار با فلورسئین به انتهای DNA شکسته شده متصل می شود و فلورسانس توسط میکروسکوپ فلورسان قابل مشاهده می شود، ترکیب آنتی بادی آنتی – فلوروسین وHRP به نوکلئوتیدی که حاوی فلوروسین است می چسبدکه با استفاده از سوبسترای پراکسیداز، هیدروژن پراکسیدو دی آمینوبنزیدین (DAB) و یک رنگ دائم شناسایی شده است. با استفاده از این راهکار، هسته های آپوپتوتیک رنگ قهوه ای تیره به خود می گیرند. با کمک کیت تانل هسته نورونهای آپوپتوتیک رنگ به قهوه ای تیره مشخص می شوند ولی نورونهای نکروتیک و سالم رنگ زیادی را جذب نمی کنند. در این تست انتهای کروماتین های شکسته شده برای تمایز آپوپتوز و رنگ آمیزی این هسته ها توسط آنزیم هایی مشخص شده و با دی آمینوبنزیدین (DAB) رنگ می شود (۱۹).

نتایج بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شد و در موارد معنی دار بودن اختلاف از آزمونTukey استفاده گردید و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]

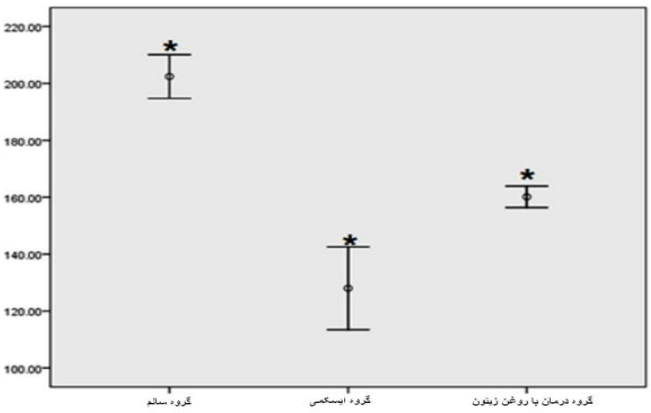
یافته ها

نتایج بدست آمده از رنگ آمیزی نیسل برای شمارش سلول های نکروتیک و تست تانل برای شناسایی سلول های آپوپتوتیک درکورتکس لوب تمپورال کاهش معنی دار مرگ سلولی را نشان داد (p<۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱. A- گروه سالم بدون سلول های نکروتیک (نیسل) B-گروه ایسکمی تعداد زیادی سلولهای نکروتیک،C-گروه تحت درمان با سلولهای نکروتیک کمتر، D- گروه سالم بدون سلولهای آپوپتوتیک (تانل) E- گروه ایسکمی با تعداد زیادی سلول های آپوپتوتیک (سلول های قهوه ای تیره)، F- گروه تحت درمان با روغن زیتون با سلول های آپوپتوتیک کمتر

تراکم سلولی در گروه تحت درمان در مقایسه با گروه ایسکمی افزایش معنی داری داشت* (p<۰/۰۵) (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه تراکم سلول های سالم در منطقه تمپورال مغز.

رنگ آمیزی کرزیل ویوله وضعیت سلولهای سالم و نکروتیک را در قسمتهای بافت نشان داد. حیوانات درمان شده باروغن زیتون مرگ سلولی کمتر و تراکم سلولی بیشتری در مقایسه باگروه ایسکمیک داشتند. بهترین نتایج درمان در گروه تحت درمان باروغن زیتون به دست آمد. در گروه تحت درمان باروغن زیتون به دلیل وجود آنتی اکسیدان ها در آن، مرگ نورونی کمتری در لوب تمپورال مغز بدنبال ایسکمی مشاهده شد. در گروه سالم این اختلالات و بررسی اثرات روغن زیتون قابل بررسی نبود. تست تانل افزایش سلول های آپوپتوتیک را در گروه ایسکمیک و کاهش این سلولها را در گروه درمان نشان داد. در گروه درمان، سلولهای آپوپتوزی کمتر از گروه ایسکمیک بود، این سلول های در حال آپوپتوز در گروه سالم دیده نشد.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه در گروه تحت درمان کاهش میزان مرگ و میر سلول ها در ناحیه کورتکس تمپورال مغز مشاهده شد که به علت اثرات آنتی اکسیدانها و چربی های غیر اشباع موجود در این روغن مثل پلی فنول ها، اسید اولئیک، اسید لینولینیک، اسید لینولئیک و ویتامین E می باشد. این ترکیبات بعد از جذب از دستگاه گوارش وارد خون شده و مقداری از آن بعد از اینکه به مغز رسید به علت خاصیت محلولب ودن در چربی، از سد خونی – مغزی گذشته و وارد قسمت های مختلف آن از جمله کورتکس تمپورال می شود. در این محل پلی فنول‌ها و اثرات سینرژیستی این ترکیبات با ویتامینE باعث اثرات قوی آنتی اکسیدانی بر روی رادیکال های آزاد و اسیدهایی می شوند که به دنبال کاهش خون رسانی در این محل تجمع پیدا کرده اند و با آنها واکنش داده و آنها را خنثی می کنند و از این طریق از واکنش این رادیکال ها با لیپید های موجود در غشای نورون ها جلوگیری می کنند. تغییرات ساختاری در رگ های خونی مخصوصا در اندام حیاتی مثل مغز در نتیجه تشکیل پلاک های آترومی با کاهش عرضه خون به مغز خطر سکته مغزی و آسیب دائمی به آن را افزایش میدهد (۲۰). هنگامی که ایسکمی مغزی به صورت تجربی در موشها القا می شود تغییراتی در رفتار و حرکات موشها نسبت به قبل از القای ایسکمی رخ می دهد که ناشی از مرگ تعدادی از سلول های دستگاه عصبی مرکزی می باشد (۲۱). Paniagua و همکاران مشاهده کردند که مصرف هم زمان روغن زیتون و روغن نباتی جامد در خرگوش با کاهش معنی دار سطح تری گلیسرید خون همراه بود (۲۲).

محققان مصرف مکرر روغن زیتون در پیشگیری از اختلالات حافظه ای ناشی از ایسکمی را به اثر آنتی اکسیدان های موجود در آن مربوط دانسته اند (۲۵-۲۳). مشخص شده که ترکیبات موجود در روغن زیتون، بر فعالیت سیستم کولینرژیک مغزی نیز اثر تعدیلی دارد (۲۷و۲۶) و سیستم کولینرژیک، دوپامینرژیک، سروتونرژیک نقش مهمی در فرآیند یادگیری و حافظه دارند (۲۹و۲۸). در این مطالعه گروه تحت درمان نسبت به گروه ایسکمی تغییرات تخریبی بسیار کمتری داشت که علت آن نیز احتمالا به دلیل وجودترکیبات آنتی اکسیدانی موثر در روغن زیتون بوده که قبل و بعد از ایسکمی به موش های این گروه داده شده بود. این موضوع با تست های تانل نیز مطابقت داشت که در آنها کاهش مرگ و میر سلولی در لوب تمپورال در گروه درمان مشاهده شد. مطالعات نشان داده اند که تجویز روغن زیتون صدمات وارده بر مغز بدنبال هایپوکسی در رت مدل دیابت نوع یک را نیز کاهش داده است (۳۰).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]

استفاده از روغن زیتون در رژیم غذایی باعث ذخیره ترکیبات این روغن در بدن می شود. لوب تمپورال مغز در مقابل ایسکمی و هیپوکسی و رادیکال های آزاد آسیب پذیر می باشد. مصرف روغن زیتون بعد از ایسکمی مغزی می تواند مرگ و میر نورون های لوب تمپورال مغز را کاهش دهد و باعث حفظ نورون ها از عوامل مضر شود. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف روغن زیتون بعد از ایسکمی مغزی می تواند حتی سلول های حساس به ایسکمی را هم در مقابل عوارض متعاقب آن محافظت کرده و با کاهش دادن مرگ آن ها، عوارض نامطلوب بعد از ایسکمی را در حد چشمگیری کاهش دهد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]

Effect of Olive Oil in Brain Temporal Cortex Following Ischemia-Reperfusion

M. Zamani (MSc) [1], M. Katebi (PhD) [2], J. Hassanshahi (MSc) [3], F. Zamani (BSc) [4], M. Soleimani (PhD) [1*]

1. Cellular and Molecular Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Persian Gulf Research Center for Stem Cell Therapy, Bandar Abbas, Iran
3. Department of Physiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Alzahra Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(5); Sep 2012; pp: 49-55.
Received: Dec 31st 2011, Revised: Feb 8th 2012, Accepted: May 2nd 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The use of antioxidants has been considered for the prevention and treatment of ischemic complications, particularly in the brain. Previous study showed a reduction in cell death in brain ischemia before and after treatment with antioxidants. The aim of this study was to investigate the effect of olive oil on Temporal cortical cell death following ischemia reperfusion injury.

METHODS: This study was performed on 21 adult male BALB/c mice (35-40 g). Experimental design includes three groups: intact group (n=7), ischemic control (n=7), treatment groups with olive oil (n=7). The mice treated with olive oil (180 micro liter) as pre- treatment for a week. Then, ischemia in temporal cortex lob induced by common carotid artery occlusion (for 15 minutes) and following the reduction in inflammation (a week), the mice post-treated with olive oil. Nissl staining applied to counting necrotic cells and Tunnel kit was used to quantify apoptotic cell death in temporal cortex lob.

FINDINGS: There was a significant increase in cell death in temporal cortex lob in ischemic samples in compared to control group (30-35 cells increased in treatment group compared to ischemia group) ($p<0.05$). There was a significant decrease in cell death rate in treatment group in compared to ischemia group (50-55 cells decreased in ischemia group compared to control group) ($p<0.05$).

CONCLUSION: Our findings showed that olive oil consumption significantly reduced cell death following ischemia reperfusion injury.

KEY WORDS: *Temporal cortex, Ischemia-reperfusion, Mice, Neuroprotective effect, Olive oil.*

[*] **Corresponding Author;**
Address: Cellular and Molecular Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: +98 21 86704720
E-mail: mansourehsoleimani@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]

References

1. Bedard AC, Nichols S, Barbosa JA, Schachar R, Logan GD, Tannock R. The development of selective inhibitory control across the life span. Dev Neuropsychol 2002;21(1):93-111.

2. Silva-Gomez AB, Rojas D, Juarez I, Flores G. Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats. Brain Res 2003;983(1-2):128-36.

3. Noroozian M, Lotfi J, Ghassemzadeh H, Emami H, Mehrabi Y. Academic achievement and learning abilities in left handers: guilt or gift? Cortex 2002;38(5):779-85.

4. Nussmeier NA. A review of risk factors for adverse neurologic outcome after cardiac surgery. J Extra Corpor Technol 2002;34(1):4-10.

5. Wityk RJ, Glodsborough MA, Hillis A, et al. Diffusion- and perfusion-weighted brainmagnetic resonance imaging in patients with neurologic complications after cardiac surgery. Arch Neurol 2001;58(4):571-6.

6. Conley MJ, Ely RL, Kisslo J, Lee KL, McNeer JF, Rosati RA. The prognostic spectrum of left main stenosis. Circulation 1978;57(5):947-52.

7. Hadjinikolaou L. Kotidis K. Galinanes M. Relationship between reduced elasticity of extracardiac vessels and left main stem coronary artery disease. Eur Heart J 2004;25(6):508-513.

8. Bernard SA, Gray TW, Buist MD, et al. Treatment of comatose survivors of out-of hospital cardiac arrest with induced hypothermia. N Engl J Med 2002;346(8):557-63.

9. Doyle KP, Simon RP, Stenzel-Poore MP. Mechanisms of ischemic brain damage. Neuropharmacology 2008,55(3):310-8.

10. Huang L, Chen N, Ge M, Zhu Y, Guan S, Wang JH. Ca2+ and acidosis synergistically lead to the dysfunction of cortical GABAergic neurons during ischemia. Biochem Biophys Res Commun 2010;394(3):709-14.

11. Simonova Z, Sterbova K, Brozek G, et al. Postnatal hypobaric hypoxia in rats impairs water maze learning and morphology of neurones and macroglia in cortex and hippocampus. Behav Brain Res 2003;141(2):195-205.

12. Weglicki WB, Dickens BF, Mak IT. Enhanced lysosomal phospholipid degradation and lysosphospholipid production due to free radicals. Biochem Biophys Res Commun 1984;124(1):229-35.

13. Stoneham M, Goldacre M, Seagroatt V, Gill L. Olive oil, diet and colorectal cancer: an ecological study and a hypothesis. J Epidemiol Comm Health 2000;54(10):756-60.

14. Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, et al. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. Eur J Clin Invest 2005;35(7):421-4.

15. Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. Am J Cadiol 2003;91(3A):7-11.

16. Battino M, Quiles JL, Huertas JR, et al. Feeding fried oil changes antioxidant and fatty acid pattern of rat and affects rat liver mitochondrial respiratory chain components. J Bioenerg Biomembr 2002;34(2):127-34.

17. Aliev G, Obrenovich ME, Reddy VP, et al. Antioxidant therapy in Alzheimer's disease: theory and practice. Mini Rev Med Chem 2008;8(13):1395-406.

18. Canham PB, Finlay HM, Kiernan JA, Ferguson GG. Layered structure of saccular aneurysms assessed by collagen birefringence. Neurol Res 1999;21(7):618-26.

19. Negoescu A, Guillermet CH, Lorimier PH, et al. TUNEL apoptotic cell detection in archived paraffin-embedded tissues. Biochemica 1998;3:36-47.

20. Mirmiran P, Esmaillzadeh A, Azizi F. Detection of cardiovascular risk factors by anthropometric measures in Tehranian adults: Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. Eur J Clin Nutr. 2004;58(8):1110-8.

21. Weiss LE, Sanderson AC, Neuman CP. Dynamic sensor-based control of robots with visual feedback. IEEE J Robot Autom 1987;3(5):404-17.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]

22. Paniagua JA, de la Sacristana AG, Sanchez E, et al. A MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1responses in insulin-resistant subjects. J Am Coll Nutr 2007;26(5):434-44.
23. Cho J, Kang JS, Long PH, Jing J, Back Y, Chung KS. Antioxidant and memory enhancing effects of purple sweet potato anthocyanin and cordyceps mushroom extract. Arch Pharm Res 2003;26(10):821-5.
24. Reis EA, Zugno AI, Franzon R, et al. Pretreatment with vitamins E and C prevent the impairment of memory caused by homocysteine administration in rats. Metab Brain Dis 2002;17(3):211-7.
25. Castagné V, Rougemont M, Cuenod M, et al. Low brain glutathione and ascorbic acid associated with dopamine uptake inhibition during rat's development induce long-term cognitive deficit: relevance to schizophrenia. Neurobiol Dis 2004;15(1):93-105.
26. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. Curr Opin Neurobiol 2006;16(6):710-5.
27. Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. Brain Res Brain Res Rev 2003;41(2-3):268-87.
28. Lee L, Kang SA, Lee HO, et al. Effect of supplementation of vitamin E and vitamin C on brain acetylcholinesterase activity and neurotransmitter levels in rats treated with scopolamine, an inducer of dementia. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) 2001;47(5):323-8.
29. Biessels GJ, Kerssen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. Prim Care Diabetes 2007;1(4):187-93.
30. De La Cruz JP, Del Rio S, Arrebola MM, Lopez Villodres JA, Jebrouni N, Gonzalez Correa JA. Effect of virgin olive oil plus acetylsalicylic acid on brain slices damage after hypoxia-reoxygenation in rats with type 1-like diabetes mellitus. Neurosci Lett 2010;471(2):89-93.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.14.5.7.1]