





صاحب امتیاز: دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مدیر مسئول: مهدی رهنما

سردبیر: مریم شمس لاهیجانی

اعضاء هیئت تحریریه (به ترتیب حرف الفبا):

دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی ماهیان	بهروز ابطحی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد دانشیار تکوین جانوری	جواد بهار آرا
دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی پزشکی	محمد رضا بیگدلی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان استادیار زیست سلولی	زهرا دیلمی خیابانی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان دانشیار فیزیولوژی جانوری	مهدی رهنما
دانشگاه خوارزمی تهران استاد فیزیولوژی جانوری	شهربانو عریان
دانشگاه شهید بهشتی تهران استاد جنین شناسی و تکوین جانوری	مریم شمس لاهیجانی
دانشگاه زنجان دانشیار زیست شناسی جانوری	محمد مرادی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون استاد فیزیولوژی جانوری	مختار مختاری

هیات اجرایی:

مدیر داخلی: شهرزاد نصیری سمنانی

ویراستار علمی: احمد مجد

ویراستار انگلیسی: سعید آبریان

ویراستار ادبی: تورج عقدایی

ویراستار استادی: حامد علیزاده

ناشر: انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مسئول نمایه سازی: حامد علیزاده

طراحی و صفحه آرایی: حسن بابایی

نشانی: زنجان، اعتمادیه، خیابان معلم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دفتر مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری

صندوق پستی: 45195-1464

تلفاکس: 024-33465890

آدرس پست الکترونیکی: apad@iauz.ac.ir

شمارگان: 1000 نسخه

آدرس وب سایت: Journals.iauz.ac.ir

قیمت: 80000 ریال

نقل مطالب با ذکر ماخذ بلامانع است

مقالات این فصلنامه در پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC)، مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) و بانک اطلاعات نشریات کشور (Magiran) نمایه می گردد.

براساس نامه شماره (92/10/22-3/18/537113) وزارت علوم تحقیقات و فناوری، به این فصلنامه رتبه علمی پژوهشی اعطا گردیده است.

راهنمای تنظیم و تدوین مقاله در فصل نامه فیزیولوژی و تکوین جانوری

دانشگاه آزاداسلامی واحد زنجان

مقاله‌های پژوهشی در زمینه‌های مختلف مرتبط با فیزیولوژی و تکوین جانوری منوط به این که دارای نوآوری بوده و تاکنون متن کامل آن در سایر مجلات به چاپ نرسیده باشند، برای چاپ پذیرفته می‌شوند.

نحوه پذیرش مقاله

الف- مقاله به زبان فارسی و چکیده آن به زبان انگلیسی تدوین شود.

ب- مطالب هر مقاله به صورت زیر تنظیم شود:

عنوان مقاله می‌بایست کوتاه و بیان گر محتوای مقاله و حداکثر در 20 کلمه تنظیم شده باشد.

اسامی نویسندگان در زیر عنوان مقاله آورده شود. نشانی کامل محل کار نویسندگان، با ذکر شماره در زیر اسامی نویسندگان در صفحه اول آورده شود. لازم است که نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبات به طور کامل ذکر شود. اسم نویسنده مسئول **Bold** و زیر آن خط دار باشد.

چکیده مقاله به زبان فارسی و انگلیسی باید مجموعه‌ای فشرده و گویا از مقاله با تاکید بر زمینه و هدف، روش کار، یافته ها و نتیجه گیری به دست آمده باشد و از 250 کلمه (حدود 20 سطر) بیشتر نباشد.

واژه های کلیدی در انتهای چکیده مقاله متناسب با متن مقاله به تعداد 3 الی 5 واژه آورده شود.

مقدمه با طرح مساله و بیان پژوهش‌های انجام شده، لزوم انجام پژوهش را توجیه نماید.

مواد و روش‌ها شیوه اجرای پژوهش و نحوه پردازش آماری داده‌ها در این بخش ارائه گردد.

نتایج در این بخش از توضیحات مختصری استفاده شود و آنالیز آماری آن‌ها به صورت متن، شکل، نمودار و یا جدول ارائه شود. نتایج به یک شیوه ارائه گردد. شکل‌ها، نمودارها و جدول‌ها باید گویا و دارای شماره باشند و مشخصات آماری و اطلاعات لازم از قبیل نام محورها، مقیاس و راهنمای نمودار روی آن‌ها مشخص باشد.

عنوان جدول‌ها در بالا و توضیح شکل‌ها و نمودارها در زیر آن‌ها به فارسی نوشته شود. اصل نمودارها به صورت دو بعدی بدون حاشیه و تزیینات اضافی تنظیم شود و ابعاد آن‌ها از 8×12 سانتی متر بزرگتر نباشد. عکس‌ها به صورت فایل‌های مجزا و با کیفیت مناسب جهت چاپ با نام‌های مشخص روی CD ضبط و به دفتر مجله ارسال شود.

عکس‌ها باید دقیق و روشن و به نحوی تهیه شوند که از نظر فنی چاپ آن‌ها با کیفیت مطلوب در مجله مقدر باشد. عکس‌ها و تصاویر باید دارای شماره گذاری متوالی بوده و ترتیب آن‌ها بر اساس ارجاع به آن‌ها در متن باشد.

ابعاد عکس‌های ارائه شده باید در یک اندازه و از 8×12 سانتی متر بزرگتر نباشد. در پشت اصل عکس، عنوان مقاله و نویسنده و شماره عکس ذکر گردد. عکس‌ها باید اصل بوده و از ارسال فتوکپی و عکس‌های با کیفیت پایین خودداری و محل دقیق عکس‌ها در متن مشخص شود. بهتر است به صورت یک فایل جداگانه jpg تهیه شود.

بحث و نتیجه گیری با توجه به هدف تحقیق و مقایسه با یافته‌های سایر پژوهش‌ها، تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده انجام شود.

تشکر و قدردانی (در صورت لزوم)

منابع به صورت الفبایی (نام خانوادگی اولین مولف) تنظیم گردد و شماره هر مورد در متن داخل پرانتز آورده شود (مقاله) در نوشتن منابع، در صورت استفاده از منابع فارسی ابتدا این منابع و سپس منابع خارجی آورده شود.

مقاله: نام خانوادگی و نام نویسنده (نویسندگان)، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، نام اختصاری مجله، شماره و دوره مجله، صفحات اول و آخر مقاله استفاده شده.

نمونه فارسی:

1- پورغلام، ر.، اسماعیلی، ف.، فرهومند، ه.، سلطانی، م.، یوسفی، پ.، مهرداد، ح. 1380. بررسی مشخصه های خونی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharygondon idella*) بعد از تماس با سم ارگانوفسفره دیازینون. مجله علمی شیلات ایران. سال سوم. شماره 2. ص 1-18.

نمونه انگلیسی:

1. Frieman, S.G., Pearce, F.J. (1982). The role of blood glucose in defense of plasma volume during hemorrhage. *J Trauma*, 22 (3);86-92.

کتاب: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان کتاب. شماره چاپ. شهر محل چاپ: ناشر: سال انتشار، شماره صفحات.

Philips, S. J., Whisnant, J. P. Hypertension and Stroke. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. P.85-93.

مقاله کنفرانس: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. تاریخ انتشار، عنوان مقاله کنفرانس، نام کنفرانس..

Jamshidi, J., Pouresmaeili, F. (2012). Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms with bone mineral density in a population of Iranian women. *European Human Genetics Conference*, p. 390.

پایان نامه: نام خانوادگی و حروف اول نام نگارنده. تاریخ انتشار، عنوان پایان نامه. مقطع پایان نامه. دانشگاه و دانشکده. شماره صفحات.

Kaplan, S. J. (1995). Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St Louis (MO): Washington University.

پ- اصطلاح et al. پس از نام شش نویسنده می آید. بنابراین اگر تعداد نویسندگان بیش از شش نفر باشد پس از نوشتن نام کامل شش نویسنده et al. جایگزین نام نویسندگان بعدی گردد.

ت- معادل اصطلاحات در متن مقاله به زبان فارسی یا لاتین در داخل پرانتز آورده شود (مقاله نباید دارای زیر نویس باشد).

ث- شماره گذاری مقاله از چکیده مقاله شروع شده و تا پایان مقاله ادامه یابد.

ج- مقاله ترجیحاً کم تر از 5 و بیش از 15 صفحه نباشد و با نرم افزار Word2007 تایپ شود. ارسال CD الزامی است.

چ- مسئولیت صحت و سقم مطالب هر مقاله بر عهده نویسنده (نویسندگان) آن خواهد بود. ضمناً اسامی نویسندگان مقاله (اولویت قرار گرفتن و با هر گونه تغییر تا پایان بررسی مقاله) صرفاً با امضای نویسنده مسئول امکان پذیر است.

ح- مجله حق رد، قبول، اصلاح، ویرایش و خلاصه نمودن مقاله را برای خود محفوظ می دارد. مقالات دریافتی به هیچ عنوان مسترد نخواهد شد.

خ- کلیه مقالات منطبق با شرایط فوق، بلافاصله پس از وصول توسط هیئت تحریریه مورد بررسی قرار گرفته و در صورت تأیید مقاله ضمن اعلام به نویسنده، جهت داوری ارسال می گردد.

د- مقاله در یک نسخه اصل و سه نسخه کپی از مقاله (نسخ کپی فاقد اسم، آدرس نویسنده و تشکر و قدردانی باشد) به دفتر مجله ارسال گردد. ضمناً توجه گردد همراه مقاله در یک صفحه مجزا عنوان مقاله (فارسی و انگلیسی)، نام و نام خانوادگی نویسندگان (فارسی و انگلیسی)، مرتبه علمی و محل اشتغال آن ها به همراه شماره تلفن محل کار و آدرس پست الکترونیکی نویسنده مسئول جهت تسریع در مکاتبات بعدی ذکر شود و یک تعهدنامه با امضای تمام نویسندگان به پیوست آن ارسال گردد.

ذ- در کلیه مراحل بررسی مقاله، ایرادات و اصلاحات مورد نیاز جهت تامین نظر داوری برای نویسنده ارسال می شود و در صورت تأیید نهایی مقاله ضمن اعلام به نویسنده، در نوبت چاپ قرار می گیرد.

نسخه های مجله پس از چاپ به تعداد نویسندگان هر مقاله به آدرس نویسنده مسئول ارسال خواهد شد.



فهرست مطالب

◀ بررسی ارتباط بین اثر پیش شرطی سازی هایپراکسی متناوب بر سطح پروتئین مبادله گر سدیم- کلسیم 1 و میزان حجم سکنه مغزی در مدل سکنه مغزی.....1.....
اکرام محمدی، محمدرضا بیگدلی

◀ مطالعه بافت شناسی و ساختار تخمدان اردک ماهی (*Esox lucius*) تالاب انزلی.....13.....
علی خدادوست، حسین خارا، وحید تقی زاده، محمد رضا ایمانپور

◀ بررسی مقایسه‌ای اثرات مورفولین و سرم فیزیولوژیکی بر پارامترهای خونی و بافت طحال در موش سفید (آلبینو) نر.....23.....
نسیم نعیمی، حمیدرضا عادل، کبری زارع

◀ بررسی اثر عصاره آبی - الکی لعل کوهستان (*Oliveria decumbens*) بر فاکتورهای عملکردی و تغییرات بافتی کلیه موش صحرائی نر بالغ تحت مسمومیت با کلرید کادمیم33.....
مریم رحیمی کازرونی، مختار مختاری، مهرداد شریعتی، سمیه رحیمی کازرونی

◀ بررسی اثر عصاره الکی برگ کرفس کوهی (*Kellussia odoratissima*) و ویتامین B12 بر میزان شاخص‌های التهابی در موش صحرائی مبتلا به انسفالومیلیت آلرژیک تجربی.....43.....
اکبر کریمی، مجید گورویی

◀ بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکی برگ گیاه آلوئه ورا بر تکثیر سلول‌های سرطانی دهانه رحم (Hela)....51.....
الیه ابراهیمی، مسعود پارسانیا، حمید حسینی دوست

◀ بررسی برهم کنش سیستم دوپامینی D1 پوسته آکومبئس و سیستم گلو تامانی ناحیه پری لیمبیک بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های صحرائی نر.....59.....
حاتم احمدی، پروین رستمی، محمد رضا زرین دست، محمد ناصحی، هما محسنی کوچصفهانی

◀ بررسی اثر تزریق داخل صفاقی عصاره‌های آبی و آلی اوکالیپتوس بر فاکتورهای بیوشیمیایی و خونی موش صحرائی نر نژاد اسپیرال.....75.....
محسن اجلی، حسین حمزه‌ای، پروش قادری نیا، حامد علیزاده

بررسی ارتباط بین اثر پیش‌شرطی‌سازی هایپراکسی متناوب بر سطح پروتئین مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 و میزان حجم سگته مغزی در مدل سگته مغزی رت

اکرام محمدی¹، محمدرضا بیگدلی²

1- کارشناس ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

2- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. bigdelimohammadreza@yahoo.com

تاریخ دریافت: 93/10/28 تاریخ پذیرش: 94/1/15

چکیده

مقدمه و هدف: مطالعات اخیر بیان می‌کنند که هایپراکسی (Hyperoxia) نورموباریک (HO)، آسیب ناشی از هایپواکسی اکسیژن‌رسانی مجدد را در مغز کاهش داده و میان مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 را افزایش می‌دهد. هدف از این تحقیق، تعیین رابطه اثر HO بر مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 (NCX1, Na⁺/Ca²⁺ Exchanger) و حجم ایسکمی (Infarct Volume:IV) در مدل جانوری سگته است.

روش کار: رت‌ها به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند. اولین گروه در معرض هایپراکسی 95٪ به مدت 6 روز، هر روز به مدت 4 ساعت و گروه دوم به عنوان کنترل در معرض اکسیژن 21٪ در همان اتاقک قرار گرفت. هر گروه اصلی به 2 زیرگروه انسداد شریان میانی مغزی (MCAO) و دست‌نخورده (Intact) تقسیم شدند. بعد از 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار، زیر گروه MCAO به مدت 60 دقیقه در معرض MCAO سمت راست قرار گرفتند. بعد از 24 ساعت ریپرفیوژن، حجم ایسکمی در زیرگروه‌های MCAO اندازه‌گیری شد. بیان NCX1 در مغز در زیرگروه‌های دست‌نخورده در نواحی کور، پنومبرا و ساب‌کورتکس ارزیابی گردید.

یافته‌ها: پیش‌شرطی‌سازی با هایپراکسی، IV را کاهش و باعث افزایش بیان NCX1 در پنومبرا و ساب‌کورتکس شده و به تدریج در طول 15 روز پس از تیمار اثرات هایپراکسی از بین رفت.

نتیجه‌گیری: اگرچه مطالعات بیشتر برای شفاف‌سازی مکانیسم‌های دخیل در مقاومت به ایسکمی نیازمند است، می‌توان بیان کرد که هایپراکسی با بیان NCX1 و کاهش IV مرتبط بوده و این نتایج تأییدکننده یک نقش نوروپروتکتیو برای NCX1 در تولید محافظت به ایسکمی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1، هایپراکسی، ایسکمی مغزی، محافظت عصبی، حجم سگته.

مقدمه

آسیب خفیف زیر حد کشنده، حفاظت قدرتمندی را در برابر آثار زیان‌آور ایسکمی کشنده، طولانی و متوالی القا می‌کند (9). پیش‌شرطی‌سازی در مغز، قلب و سایر ارگان‌ها به یک فرایند سازشی طبیعی بر می‌گردد که می‌تواند توسط انواع آسیب‌های کمتر از حد کشندگی (مانند هایپواکسی گذرا) القا شود و مقاومت بافت را در مقابل ایسکمی متعاقب با پتانسیل کشندگی، افزایش دهد. این مقاومت سلولی سازشی، یک توانایی

تحریکات آسیب‌رسان در مقادیر پائین و زیر آستانه آسیب‌رسان به سلول، پاسخ سازشی القا می‌کند که مغز را در برابر استرس‌های دیگر حاصل از همین تحریکات آسیب‌رسان حفاظت می‌نماید (27). مقاومت به ایسکمی (Ischemic Tolerance (IT)) یک پدیده درون‌زاد است که در مقابل آسیب بعدی ایسکمی مقاومت ایجاد می‌کند (12). پیش‌شرطی‌سازی به ایسکمی پدیده‌ای است که در آن دوره‌های کوتاه

فاکتورهای دیگر ایجاد شود. ممکن است نتایج محافظت عصبی HO کاربردهای کلینیکی مهمی داشته باشد. بنابراین، مطالعه دوام IT ایجاد شده توسط هایپراکسی از نظر کلینیکی مهم است (13). NCX یکی از مهم ترین مکانیسم های سلولی برای خروج کلسیم می باشد (6). در واقع NCX (Na⁺/Ca²⁺ Exchanger) یک آنتی پورتر غشایی است که کلسیم را از سلول بیرون می کند و از انرژی ذخیره شده در شیب الکتروشیمیایی سدیم استفاده می کند، بدین طریق که سدیم بر اساس گرادیان خود از غشای پلاسمایی وارد می شود تا با یون کلسیم به صورت کونترترانسپورت مبادله گردد. NCX یک یون کلسیم را در ازای ورود 3 یون سدیم خارج می کند (30). این مبادله گر به طور معمول در غشای پلاسمایی، میتوکندری، شبکه اندوپلاسمایی سلول های تحریکی یافت می شود (24)، (11). سه ایزوفرم متفاوت NCX1، NCX2، NCX3 و NCX3 با ژن های مجزا در پستانداران کد می شوند (20، 19، 13) و از نظر خصوصیات بیوفیزیکی مشترک هستند اما حساسیت های متفاوتی به سطوح ATP دارند و به طور متفاوت در دوران تکوینی و افراد بالغ بیان می گردند (30، 23، 16). در مطالعه ای دریافتند که با به کارگیری آنتی سنس های اولیگو نوکسی- نوکلئوتید بر علیه محصول ژنی NCX1، آسیب ایسکمی و نقص نورولوژیک شدیدتری ایجاد می شود. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که اثر محافظت عصبی اعمال شده توسط خانواده NCX، حین آسیب ایسکمی، عمدتاً توسط محصولات ژنی NCX1 ایفا می گردد (25). اخیراً نشان داده شده است که پیش-شرطی سازی توسط هایپراکسی متناوب (InHO، Intermittent hyperoxia)، بیان انتقال دهنده های گلو تامات (glutamate transporters)، EAATs (Excitatory Amino-Acid Transporters)، آنزیم

اساسی در سلول های زنده است و به آن ها اجازه می دهد که در معرض استرس دوام پیدا نمایند (21). گزارش شده که پیش شرطی سازی به ایسکمی مغزی از طریق القای ایسکمی زیر حد کشنده بعد از 1 تا 7 روز خون رسانی مجدد، نورون ها را از آسیب ناشی از دوره های ایسکمی طولانی تر بعدی محافظت می کند، حالتی که به طور طبیعی نورون های CA1 هیپوکامپ را از بین می برد (27). هم چنین گزارشات نشان داده اند که پیش-شرطی سازی توسط Sevoflurane، آپوتوز القا شده توسط ایسکمی را حداکثر تا 7 روز پس از آسیب ایسکمی کاهش می دهد و بعد از 14 روز هیچ تفاوتی بین گروه کنترل و گروه تیمار شده مشاهده نمی گردد (7). گزارشات اخیر نشان داده است که هایپراکسی می تواند باعث القا IT شده و در مقابل آسیب مغزی و بیماری های تخریب کننده نورونی محافظت ایجاد نماید (3). مشخص گردیده که IT القا شده توسط HO، حجم سکنه، امتیاز نقص نورولوژیک (neuro deficit score) NDS، ادم مغزی و نفوذ پذیری سد خونی مغزی را کاهش می دهد (5). اثر نوروپروتکتیو القا شده توسط HO (hyperoxia) پاسخ-های سازشی ویژه ای را ایجاد می کند که شامل تعدادی تغییرات سلولی و بیوشیمیایی، از جمله هموستازی متابولیک و برنامه ریزی ژنی می باشد. تغییرات در مسیرهای متابولیک عموماً عمر کوتاه داشته و برگشت پذیرند در حالی که بیان ژنی که به دنبال آن رخ می دهد یک پروسه دوام دار بوده و ممکن است در نهایت منجر به تغییرات دائمی در الگوی بیان ژنی شوند (3). ممکن است القا و حفظ IT مغز توسط تغییرات در بیان میانجی های مختلف، شامل گیرنده های NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) (10)، فاکتورهای آنتی-آپتوتیک (28)، اینترلوکین 1 (22، 21) رادیکال های آزاد اکسیژن (26)، فاکتور هسته ای کاپا (4) و

روز 4 ساعت متوالی به مدت 6 روز متوالی) قرار گرفت. سپس این گروه اصلی در اتاق با هوای معمولی به مدت 2، 5، 10 و 15 روز قرار گرفت. دومین گروه اصلی به طور مشابه در جعبه هایپراکسی قرار گرفته و در معرض هوای اتاق (اکسیژن 21 درصد) طبق دوره-های ذکر شده قرار گرفت. 2، 5، 10، 15 روز بعد از تیمار، زیر گروه های MCAO (O-HO و O-RA) به مدت 60 دقیقه در معرض جراحی MCAO قرار گرفتند. 24 ساعت پس از خون‌رسانی مجدد، حجم سکنه اندازه‌گیری شد. در زیر گروه شم (S)، همه‌ی مراحل به غیر از MCAO شبیه گروه RA بود. در هر زیرگروه دست نخورده، همه‌ی مراحل شبیه گروه‌های HO و RA بود، فقط جراحی MCAO روی آن‌ها اعمال نشد. سرانجام 2، 5، 10، 15 روز پس از تیمار، حیوانات زیرگروه‌های دست نخورده I-2HO (n=6)، I-5HO (n=6)، I-10HO (n=6)، I-15HO (n=6) و شم به منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین NCX1 در نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس در نیمکره راست مغز کشته شدند.

جعبه هایپراکسی

تمام رت‌ها به مدت یک هفته در اتاق حیوانات نگهداری شدند. تمامی درزهای این جعبه (650×350 میلی‌متر) به طور کامل گرفته و یک مجرای ورودی و یک مجرای خروجی هوا دارد. ماده‌ی سودا لایم (Soda Lime) (جاذب دی‌اکسید کربن) در داخل جعبه قرار گرفت تا دی‌اکسید کربن تولیدی را جذب کند. بدین ترتیب، امکان تغییر غلظت گاز داخل جعبه به حداقل می‌رسد. اکسیژن خالص (90 درصد) یا هوای اتاق به میزان 5 لیتر در دقیقه برای تیمار حیوانات به جعبه هوا متصل شد. توسط اکسیژن متر که دارای الکتروود حس‌گر اکسیژن است، میزان غلظت اکسیژن و

تبدیل‌کننده تومور نکروزیز فاکتور α (Tumor Necrosis Factor α)، فاکتور هسته‌ای کاپا (NFkB) (6، 3) و مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 (18) را در مغز رت تغییر می‌دهد. هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین اثر پیش‌شرطی‌سازی هایپراکسی متناوب بر سطح پروتئین مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 و میزان حجم سکنه مغزی در مدل سکنه مغزی رت است.

مواد و روش‌ها

مدل جانوری و گروه‌بندی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی (Rat)، نژاد اسپیراگو-دالی (Dawley Sprague-) در محدوده وزنی 250-350 گرم که از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی خریداری شده و تحت مقررات نگهداری و کار تحقیقاتی با حیوانات آزمایشگاهی (با حرارت کنترل شده 24 ± 2 درجه سانتی‌گراد، 12 ساعت تاریکی، 12 ساعت روشنایی) و آب و غذای مخصوص حیوان (pellet) به میزان کافی و همواره در دسترس، استفاده شد. آزمایشات حداقل یک هفته پس از سازگار شدن رت-ها با محیط حیوان‌خانه، انجام می‌شد. جامعه مورد بررسی از حیوانات به طور تصادفی انتخاب شده و از میان آن‌ها نیز به طور تصادفی دو گروه نورموکسی (NO یا RA) و هایپراکسی (HO) و یک گروه 6 تایی (شم) (S) انتخاب شدند که در قفس‌های مخصوص تحت شرایط فوق نگهداری می‌شدند. هر گروه اصلی به دو زیرگروه O (انسداد شریان میانی مغز Middle Cerebral Artery Occlusion MCAO) و دست نخورده I (intact) (به ترتیب $n=45$ و $n=30$) برای ارزیابی فاکتورهای مختلف، حجم سکنه و سطح بیان NCX1 تقسیم شدند. اولین گروه اصلی در یک جعبه هایپراکسی قرار گرفت و در معرض اتمسفر هایپراکسیک (اکسیژن 90 درصد) به طور متناوب (هر

رکتوم اندازه‌گیری و در حدود 37 درجه سانتی‌گراد حفظ شد.

ارزیابی حجم آسیب بافتی ناشی از سکنه مغزی (IV)

چون رت‌های مورد آزمایش عموماً بعد از 72 ساعت از شروع انسداد می‌مردند، 24 ساعت پس از جراحی ایسکمی، ارزیابی رفتاری انجام شد. به منظور ارزیابی IV، ابتدا رت‌ها با 800mg/kg کلرال هیدرات کشته شدند، سپس مغزشان به سرعت خارج و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه در سالی‌ن سرد قرار داده شدند. در مرحله بعد، مغز در ماتریکس مغز قرار داده شده و به طور کرونال از لوب فرونتال به مقاطع 2 میلی‌متر با تیغ برش زده و به مدت 15 دقیقه در محلول 2 درصد TTC، 3، 5 تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) (مرک، آلمان) در دمای 37 درجه سانتی‌گراد برای رنگ‌آمیزی حیاتی در آن انکوبه شدند. نواحی از بافت که دچار آسیب ایسکمیک شده بود به رنگ سفید و نواحی سالم به رنگ صورتی در آمدند. سپس از برش‌ها با استفاده از دوربین دیجیتال (DSC-W310) قابل اتصال به کامپیوتر عکس برداری شد (شکل 1).

هم‌چنین دما (با میانگین 25 درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد.

ایسکمی موضعی مغزی (MCAO)

رت‌ها بعد از توزین، با داروی کلرات هیدرات (مرک آلمان) به میزان 400 میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. جراحی مدل سازی MCAO مطابق دستورالعمل لونگا و همکارانش (17) انجام می‌گردد. به طور خلاصه تحت جراحی میکروسکوپی، یک نخ بخیه نایلون از طریق تنه ECA (External Carotid Artery) وارد رگ شریانی راست شد و تا رسیدن به ACA (Anterior Cerebral Artery) از میان ICA (Internal Carotid Artery) با پتریگوپالائین بسته ادامه داده شد (14). در اثر تماس نخ بخیه و ACA جریان خون از هر طرف به MCA (Middle Cerebral Artery) بسته شد. این بسته شدن از طریق احساس مقاومت و در پیشروی نخ و ورود حدود 20 میلی‌متر طول نخ از تنه ECA مشخص گردید. بعد از 60 دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت. دمای بدن از طریق

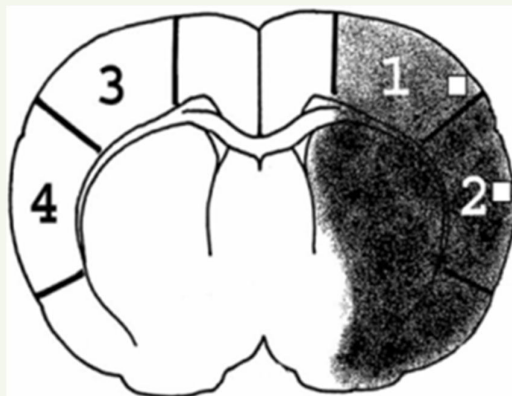


شکل 1- برش‌های مغزی رنگ‌آمیزی شده با TTC (2، 3، 5 تری فنیل تترازولیوم کلراید)، در گروه‌های مختلف که در معرض انسداد شریان میانی مغزی (MCAO) قرار گرفته بودند.

2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار، رت‌های گروه شم(S) و زیرگروه intact (I) از دو گروه هایپراکسی(HO) و نورموکسی(RO)، توسط ماده بیهوشی کلرال هیدرات(800mg/kg) کشته شدند و مغزشان به سرعت خارج شد. سپس نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس در نیمکره راست مغزها مطابق شکل 2، جدا شده(12) و توسط سونیکاتور در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در 4 حجم بافر حاوی 0/025 گرم سدیم دئوکسی کولات، NaCl0/08، 0/01 گرم SDS، 0/003 گرم EDTA، یک قرص مهارکننده پروتئاز (Rosh)، تریس - اسید هیدروکلرید با pH 7 در 20 درجه سانتی‌گراد هموژن شدند.

در پایان، مساحت ناحیه IV هر برش در نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس، با استفاده از نرم افزار Image Tool اندازه‌گیری و با حاصل ضرب مساحت-های مذکور در ضخامت 2 میلی‌متر و جمع اعداد حاصل از 8 برش حجم ناحیه آسیب بافتی با روش Swanson محاسبه گردید (29).

حجم تصحیح شده ناحیه آسیب دیده = (حجم ناحیه آسیب دیده - حجم نیمکره راست) - حجم نیمکره چپ
آماده کردن نمونه‌های مغزی جهت انجام وسترن بلات



شکل 2- تقسیم بندی نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس بر اساس تعریف lei و همکارانش. نواحی 1 و 3 پنومبرا، نواحی 2 و 4 کور و نواحی زیرین ساب کورتکس می باشند.

آنالیز وسترن بلات

هموژن محتوی 60 میکروگرم از پروتئین کل، از نیمکره راست مغزی زیرگروه‌های (گروه شم(S)، هایپراکسی(I-HO) و (O-RA)RA)) به همراه پروتئین(Ladder) بارگذاری شدند و پروتئین‌ها بر اساس اندازه‌شان در ژل SDS-PAGE(الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید)(90 میلی‌آمپر) از هم جدا شدند. پروتئین‌ها به کاغذ (Poly Vinylidene) PVDF منتقل شدند. کاغذها در محلول فلاکینگ (Fluoride) منتقل شدند. کاغذها در محلول فلاکینگ (GE Health Care, Amersham) به مدت یک

ساعت در دمای اتاق قرار گرفته و متعاقباً با آنتی‌بادی اولیه اختصاصی مونوکلونال آنتی‌موس برای NCX1(1: 1000)(C2C12, Abcam) و بتا اکتینین (1 : 1000) (Santa Cruz) انکوبه شدند. سپس کاغذها با آنتی‌بادی ثانویه (antirabbit)(1 : 10000) (Dakocytomation, Denmark) و آنتی‌موس (ab6728, Abcam) (1:2000) به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگه داشته شدند. پروتئین‌های مورد نظر که با آنتی‌بادی اولیه اختصاصی خود شناسایی شده بودند با

پروتئین NCX1 و حجم ایسکمی (IV) مغزی با استفاده از آزمون Correlation Pearson اندازه گیری و $P \leq 0/05$ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

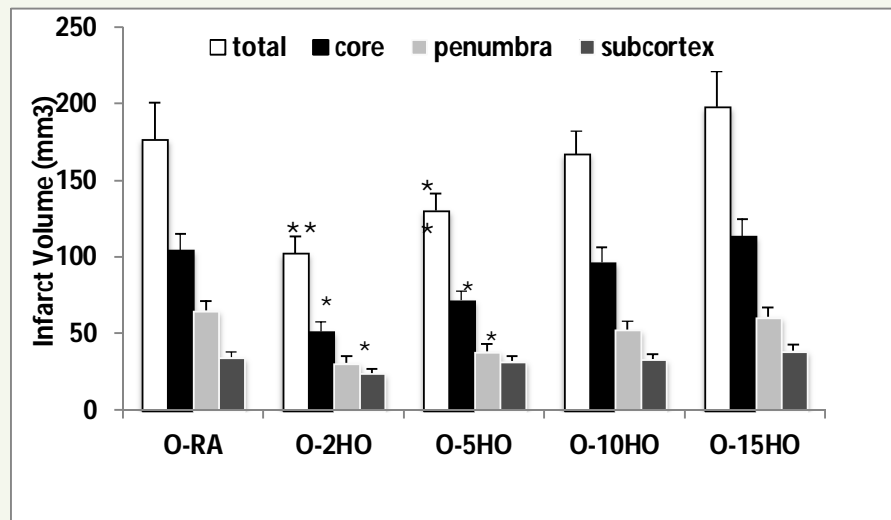
نتایج

پیش شرطی سازی با HO باعث کاهش IV در تمامی نواحی مغزی، 2 روز پس از آخرین تیمار می شود. این اثر افزایش یافته به تدریج تا 15 روز پس از آخرین تیمار از بین رفته و به حد کنترل باز می گردد. تغییرات IV، در 2، 5، 10 و 15 روز پس از آخرین تیمار در نمودار 1 به تصویر کشیده شده است.

استفاده از کیت کیمولومینسانس (Enhanced) (Chemiluminescence, Amersham Biosciences) بر روی فیلم عکاسی آشکار شدند. پس از اسکن کردن و انتقال تصاویر فیلم ها به کامپیوتر، دانسیته باندهای پروتئینی توسط نرم افزار image z مورد ارزیابی قرار گرفت.

تحلیل آماری

تمام آنالیزها با کمک نرم افزار SPSS V. 16 انجام و بیان NCX1 و حجم سکته با استفاده از آنالیز Anova یک طرفه تجزیه و تحلیل و داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار نمایش داده شد. ارتباط بین سطح



نمودار 1- اثر هایپراکسی بر میزان حجم آسیب بافتی ناشی از ایسکمی در کل نیمکره راست پس از اعمال مدل ایسکمی MCAO. در گروه کنترل (O-RA) و گروه هایپراکسی (HO) در فواصل زمانی 2، 5، 10 و 15 روز پس از آخرین تیمار نشان داده می شود. مقادیر نشان داده شده معرف $\text{mean} \pm \text{SEM}$ می باشد. $P < 0/01$ ، $p \leq 0/05$ * اختلاف از گروه کنترل را نشان می دهد.

کورتکس 2، 5، 10 و 15 روز پس از آخرین تیمار، در نمودارهای 2، 3 و 4 به تصویر کشیده شده است. هیچ رابطه معنی داری بین تغییرات IV و NCX1 در ناحیه کور وجود ندارد ($P=0/116$). رابطه معناداری بین تغییرات IV و NCX1 در ناحیه پنومبرا و ساب-کورتکس وجود دارد ($P=0/05$ penumbra; $P=0/001$ subcortex).

پیش شرطی سازی با HO باعث افزایش بیان NCX1 در نواحی پنومبرا و ساب کورتکس، 2 روز پس از آخرین تیمار می شود. این اثر افزایش یافته به تدریج تا 15 روز پس از آخرین تیمار از بین رفته و به حد کنترل باز می گردد. بیان NCX1 در ناحیه کور 2 روز پس از هایپراکسی در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معناداری نداشت (شکل 3). ارتباط بین روند تغییرات IV و پروتئین NCX1 در نواحی کور، پنومبرا و ساب-

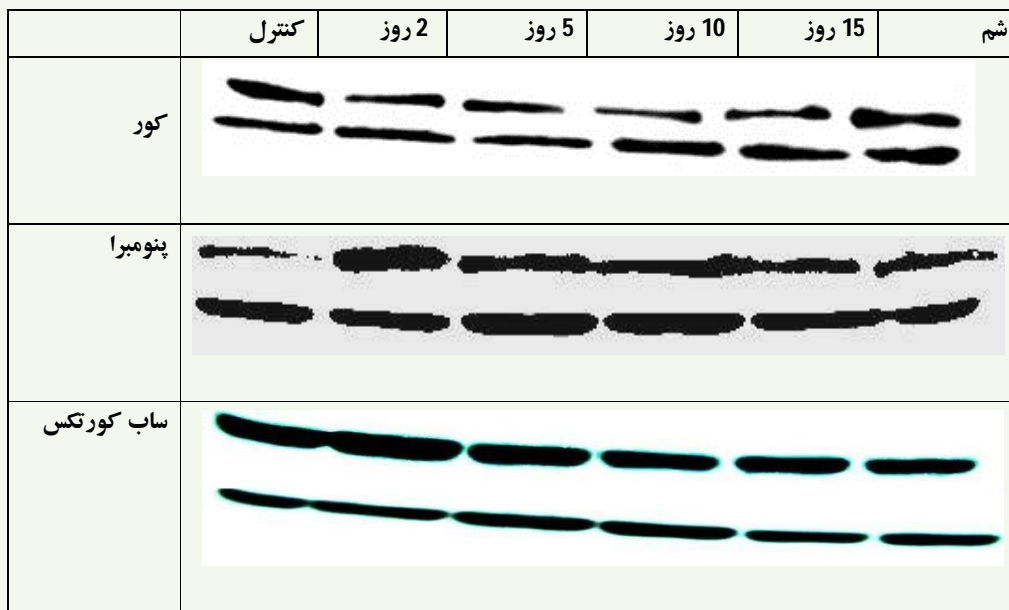
بحث و نتیجه گیری

مطالعات قبلی نشان داد که هایپراکسی متناوب که IT را القا می کند، نقش مهمی در کاهش NDS، حجم سکنه، ادم مغزی و نفوذپذیری سد خونی مغزی دارد (5). هم چنین نشان داده شده که هایپراکسی باعث تغییر بیان EAAT، NF-kB (Nuclear Factor Kappa)، Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells، TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) و آنزیم تبدیل کننده TNF- α می شود (8). نتایج این کار تحقیقی نیز نشان داد که پیش شرطی سازی با HO، حجم سکنه را کاهش داده و باعث افزایش بیان NCX1، دو روز پس از اعمال آخرین تیمار، در اکثر نواحی مغزی (پنومبرا و ساب کورتکس) در رت گردیده است. این اثر افزایش یافته به تدریج تا 15 روز پس از آخرین تیمار به حالت کنترل بازگشت می کند. پیش شرطی سازی هایپراکسی بر بیان پروتئین NCX1 در ناحیه کور اثر افزایشی نداشت. یافته های ما تایید می کنند که NCX1 نقش محافظ عصبی در مغز دارد و باعث ایجاد IT در مغز می گردد. در واقع، مهار فارماکولوژیکی NCX منجر به آسیب شدید سلولی می شود که این آسیب از طریق افزایش غلظت سدیم داخل سلولی (1) یا از طریق افزایش آزادسازی آمینو اسیدهای تحریکی، حالتی که در اجرای عمل عکس سیستم سین ترانسپورتر گلو تامات رخ می دهد (31، 2). همچنین نشان داده شده است که به کارگیری برعلیه (Oligo Deoxy Nucleotides) ODNS محصولات ژنی NCX1 آسیب ایسکمی و نقص نورولوژیک شدیدتری را ایجاد می کند (15). هایپراکسی با تولید ROS اضافی و عوامل احتمالی دیگر، باعث فعال کردن مسیرهای داخل سلولی شده که در نهایت روی بیان ژن NCX1 در سلول های این ناحیه اثر گذاشته و باعث افزایش تولید

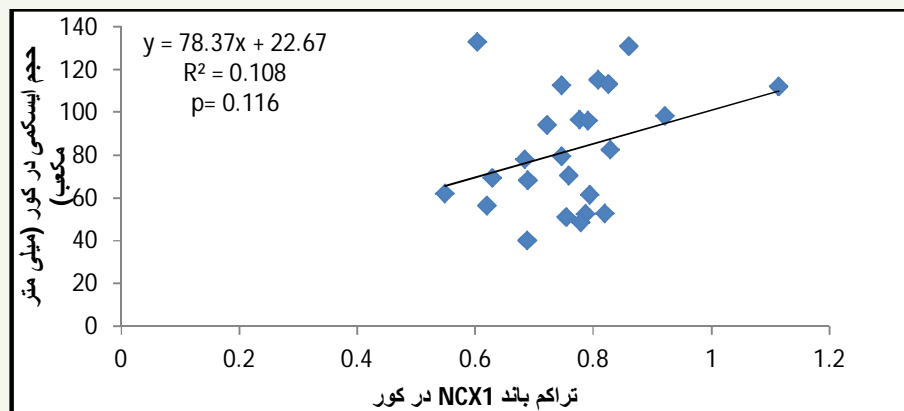
پروتئین NCX1 در فاصله 2 روز پس از اعمال آخرین تیمار شده است (18). با توجه به این که هیچ تفاوت چشمگیری بین زیرگروه های شم و کنترل وجود ندارد، می توان گفت که پیش شرطی سازی با HO، حجم سکنه را با افزایش بیان نوروپروتکتیوهای هم چون NCX1 کاهش می دهد. طبق یافته های این تحقیق، پیش شرطی با هایپراکسی، 2 روز پس از آخرین تیمار باعث افزایش بیان NCX1 در نواحی پنومبرا و ساب کورتکس شده بود، و این سطح بیان افزایش یافته به تدریج 5، 10 و 15 روز پس از آخرین تیمار به سطح کنترل بر می گردد، به عبارتی هایپراکسی اثر خود را در این فاصله 15 روز از دست می دهد، از طرف دیگر مشاهده شد که پیش تیمار با هایپراکسی، 2 روز پس از آخرین تیمار باعث کاهش حجم ایسکمی در نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس می گردد و تا 15 روز پس از اعمال آخرین تیمار، حجم ایسکمی به سطح کنترل بازگشته و افزایش می یابد. رابطه معنی داری بین روند تغییرات NCX1 و حجم ایسکمی در نواحی پنومبرا و ساب کورتکس وجود دارد، که این امر می تواند نشان دهنده این موضوع باشد که NCX1 به عنوان یک فاکتور نوروپروتکتیو عمل کرده و باعث کاهش حجم ایسکمی در پنومبرا و ساب کورتکس شده است. سیر نزولی سطح پروتئین NCX1 در روزهای 5، 10 و 15 روز به طور معکوس با سیر صعودی حجم ایسکمی در این بازه زمانی همبستگی پیرسون دارد. بهتر است یادآوری شود که در فاز اولیه آسیب آنوکسی نرونی، مود برعکس (Reverse Mood) NCX باعث ورود بیش از اندازه کلسیم و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی می شود. این حالت می تواند برای نوروها مفید باشد، زیرا این حالت متعاقباً باعث کاهش بار سدیم داخل سلولی می گردد و

از طرف دیگر، در فاز تاخیری آنوکسی نورونی؛ وقتی بگذارد، از این رو کاربرد مهمی در پاتوژنی سکنه دارد. مطالعات بیشتر به منظور بسط این مشاهدات لازم است. در پایان، امید است که استراتژی‌های جدید محافظت مغزی برای کسانی که در معرض خطر سکنه و یا کسانی که خون‌رسانی مغزشان کاهش یافته است (حین جراحی) توسعه یابد.

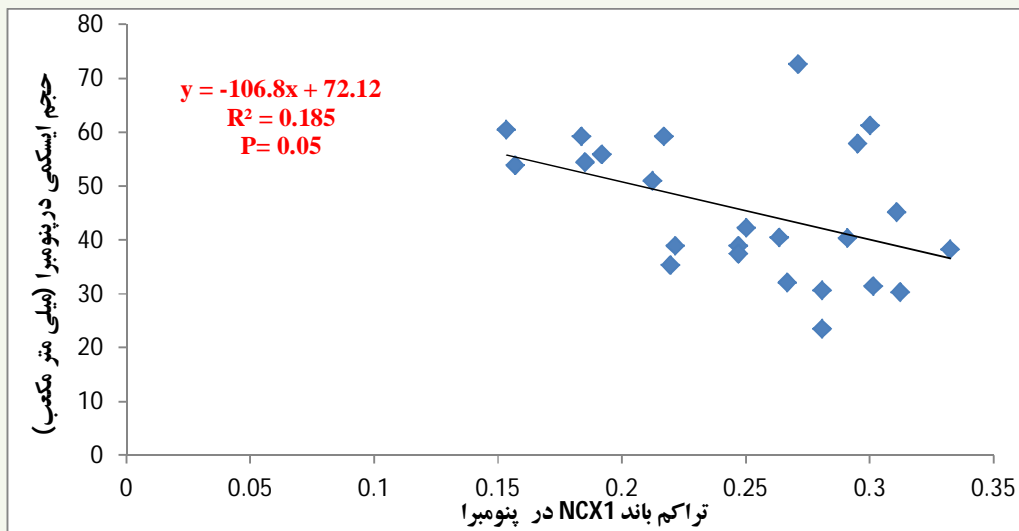
از تورم و مرگ سلولی جلوگیری به عمل می‌آورد (7). کلسیم سلول بیش از اندازه زیاد شد، NCX در حالت forward (Forward Mood) خود وارد عمل شده و باعث کاهش کلسیم داخل سلولی می‌گردد. از این رو نورون‌ها را از "سمیت سلولی القا شده توسط کلسیم" محافظت می‌کند (1). در مجموع، داده‌های ما پیشنهاد می‌کند که تغییر بیان NCX1 در پیش شرطی سازی هایپراکسی می‌تواند روی مکانیسم محافظت عصبی اثر



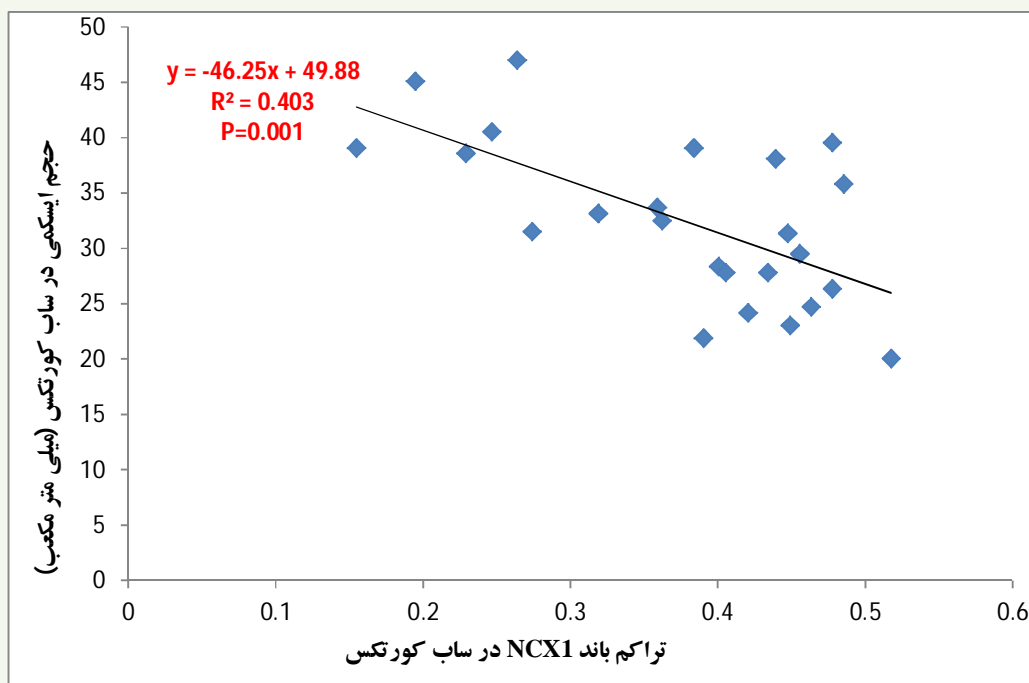
شکل 3- اثر پیش شرطی سازی هایپراکسی بر بیان پروتئین NCX3 در نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس مغزی در گروه‌های مورد مطالعه.



نمودار 2- تغییرات بین حجم سکنه مغزی و دانسیته پروتئین NCX1 در ناحیه کور مغزی، 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار با هایپراکسی، تغییرات فاقد ارتباط معنی دار می‌باشد (P=0/0116).



نمودار 3- رابطه معکوس بین حجم سکنه مغزی و دانسیته پروتئین NCX1 در ناحیه پنومبرا مغزی، 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار با هایپراکسی. ارتباط معنی داری ($R^2=0/05$ $p= 0/185$)، بین کاهش سطح بیان NCX1 و افزایش حجم سکنه ($0/329$ - Pearson Correlation=) وجود دارد.



نمودار 4- رابطه معکوس بین حجم سکنه مغزی و دانسیته پروتئین NCX1 در ناحیه ساب کورتکس مغزی، 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار با هایپراکسی. ارتباط معنی داری ($R^2= 0 /403$, $p=0 /001$)، بین کاهش سطح بیان NCX1 و افزایش حجم سکنه (Pearson Correlation= -0/635) وجود دارد.

منابع

1. Amoroso, S., De Maio, M. Russo, G.M., Catalano, ABassi, A., Montagnani, S. (1997). Pharmacological evidence that the activation of the Na^+ / Ca^{2+} exchanger protects C6 glioma

cells during chemical hypoxia. British Journal of Pharmacology, 121 (2); 303-309.

2. Amoroso, S., De Maio, M. Russo, G.M., Catalano, ABassi, A., Montagnani, S. (1993). Inhibition of the Na^+ / Ca^{2+} exchanger enhances

- anoxia and glucopenia-induced [3H] aspartate release in hippocampal slices. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 264 (2); 515-520.
3. Bigdeli, M.R. (2011). Neuro protection caused by hyperoxia preconditioning in animal stroke models. *The Scientific World JOURNAL*, 11; 403-421.
4. Bigdeli, M.R., Hajizadeh, S., Froozandeh, M., Heidarianpour, A., Rasoulilian, B., Asgari, A.R. (2008). Normobaric hyperoxia induces ischemic tolerance and upregulation of glutamate transporters in the rat brain and serum TNF-[alpha] level. *Experimental neurology*, 212 (2); 298-306.
5. Bigdeli, M.R., Hajizadeh, S., Froozandeh, M., Heidarianpour, A., Rasoulilian, B., Asgari, A.R. (2007). Prolonged and intermittent normobaric hyperoxia induce different degrees of ischemic tolerance in rat brain tissue. *Brain Research*, 1152; 228-233.
6. Bigdeli, M.R., M. Rahnema, Khoshbaten, A. (2009). Preconditioning with sublethal ischemia or intermittent normobaric hyperoxia up-regulates glutamate transporters and tumor necrosis factor-[alpha] converting enzyme in the rat brain. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 18(5); 336-342.
7. Codaccioni, J.L., Velly, L.J., Moubarik, C., Bruder, N.J., Pisano, P.S., Guillet, B.A. (2009). Sevoflurane preconditioning against focal cerebral ischemia: inhibition of apoptosis in the face of transient improvement of neurological outcome. *Anesthesiology*, 110 (6); 1271-1278.
8. Dipolo, R., Beaugé, L. (2006). Sodium/Calcium exchanger: influence of metabolic regulation on ion carrier interactions. *Physiological reviews*, 86(1); 155-203.
9. Downey, J.M., Cohen, M.V., Ytrehus, K., Liu, Y. (1994). Cellular mechanisms in ischemic preconditioning: the role of adenosine and protein kinase Ca. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 723(1); 82-98.
10. Gonzalez-Zulueta, M., Feldman, A.B., Klesse, L.J., Kalb, R.G., Dillman, J.F., Parada, L.F. (2000). Requirement for nitric oxide activation of p21ras/extracellular regulated kinase in neuronal ischemic preconditioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (1); 436-441.
11. Kiedrowski, L., Brooker, G., Costa, E., Wroblewski, J.T. (1994). Glutamate impairs neuronal calcium extrusion while reducing sodium gradient. *Neuron*, 12 (2); 295-300.
12. Kitagawa, K., Matsumoto, M., Tagaya, M., Hata, R., Ueda, H., Niinobe, M. (1990). Ischemic tolerance phenomenon found in the brain. *Brain Research*, 528(1); 21-24.
13. Konostas, AA., Goldmakher, GV., Lee, T.Y., Lev, MH. (2009). The orectic basis and technical implementations of CT perfusion in acute ischemic stroke, part 1 :theoretic basis. *American Journal of Neuroradiology*, 30(4); 662-668.
14. Lei, B., Popp, S., Capuano-Waters, C., Cottrell, JE., Kass, IS. (2004). Lidocaine attenuates apoptosis in the ischemic penumbra and reduces infarct size after transient focal cerebral ischemia in rats. *Neuroscience*, 125(3); 691-701.
15. Li, Z., Matsuoka, S., Hryshko, L.V., Nicoll, D.A., Bersohn, M.M., Burke, E.P. (1994). Cloning of the NCX2 isoform of the plasma membrane Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Journal of Biological Chemistry*, 269(26); 17434.
16. Linck, B., Qiu, Z., He, Z., Tong, Q., Hilgemann, D.W., Philipson, K.D. (1998). Functional comparison of the three isoforms of the Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX1, NCX2, NCX3). *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 274(2); C415-C423.
17. Longa, E.Z., Weinstein, P.R., Carlson, S., Cummins, R. (1989). Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 20 (1); 84-91.
18. Mohammadi, E., Bigdeli, M. R. (2013). Effects of preconditioning with normobaric hyperoxia on Na/Ca exchanger in the rat brain. *Neuroscience*, 237; 277-284.
19. Nicoll, D.A., Longoni, S., Philipson, K.D. (1990). Molecular cloning and functional expression of the cardiac sarcolemmal Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Science*, 250(4980); 562-565.
20. Nicoll, D.A., Quednau, B.D., Qui, Z., Xia, Y.R., Lusic, A.J., Philipson, K.D. (1996). Cloning of a third mammalian Na⁺/Ca²⁺ exchanger, NCX3. *Journal of Biological Chemistry*, 271 (40); 24914-24921.
21. Obrenovitch, T.P. (2008). Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia. *Physiological Reviews*, 88(1); 211-247.
22. Ohtsuki, T., Ruetzler, C.A., Tasaki, K., Hallenbeck, J.M. (1996). Interleukin-1 mediates induction of tolerance to global ischemia in gerbil hippocampal CA1 neurons.

- Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 16(6); 1137-1142.
- 23.** Papa, M., Canitano, A., Boscia, F., Castaldo, P., Sellitti, S., Porzig, H. (2003). Differential expression of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger transcripts and proteins in rat brain regions. The Journal of Comparative Neurology, 461(1); 31-48.
- 24.** Patterson, M., Sneyd, J., Friel, D.D. (2007). Depolarization-induced calcium responses in sympathetic neurons: relative contributions from Ca^{2+} entry, extrusion, ER/mitochondrial Ca^{2+} uptake and release, and Ca^{2+} buffering. The Journal of General Physiology, 129(1); 29.
- 25.** Pignataro, G., Gala, R., Cuomo, O., Tortiglione, A., Giaccio, L., Castaldo, P. (2004). Two Sodium/Calcium exchanger gene products, NCX1 and NCX3, play a major role in the development of permanent focal cerebral ischemia. Stroke, 35(11); 2566-2570.
- 26.** Ravati, A., Ahlemeyer, B., Becker, A., Klumpp, S., Kriegelstein, J.I. (2001). Preconditioning induced neuroprotection is mediated by reactive oxygen species and activation of the transcription factor nuclear factor B. Journal of neurochemistry, 78(4); 909-919.
- 27.** Romera, C., Hurtado, O., Botella, S.H., Lizasoain, I., Cárdenas, A., Fernández-Tomé, P. (2004). In vitro ischemic tolerance involves upregulation of glutamate transport partly mediated by the TACE/ADAM17 tumor necrosis factor- α pathway. The Journal of Neuroscience, 24(6); 1350-1357.
- 28.** Shimazaki, K., Ishida, A., Kawai, N. (1994). Increase in bcl-2 oncoprotein and the tolerance to ischemia-induced neuronal death in the gerbil hippocampus. Neuroscience Research, 20(1); 95-99.
- 29.** Swanson, R.A., Morton, M.T., Tsao-Wu, G., Savalos, R.A., Davidson, C., Sharp, F.R. (1990). A semiautomated method for measuring braininfarct volume. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 10(2); 290-293.
- 30.** Yu, L., Colvin, R.A. (1997). Regional differences in expression of transcripts for $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger isoforms in rat brain. Molecular Brain Research, 50 (1-2); 285-292.
- 31.** Yu, S.P., Choi, D.W. (1997). $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ Exchange currents in cortical neurons: concomitant forward and reverse operation and effect of glutamate. European Journal of Neuroscience, 9(6); 1273-1281.

