بسم الله الرحمن الرحيم

ISSN1735-9880

فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری

علمی-پژوهشی

شماره پیاپی 29 **جلد 8، شماره 2، بهار 94**

صاحب امتیاز : دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مدیـر مسئول : مهدی رهنما

ســــــردبــیر : مریم شمس لاهیجانی

اعضاء هیئت تحریریه (به ترتیب حرف الفبا):

بهروز ابطحی دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی ماهیان

جواد بهار آرا دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد دانشیار تکوین جانوری

محمد رضا بیگدلی دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی پزشکی

زهرا دیلمی خیابانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان استادیار زیست سلولی

مهدی رهنما دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان دانشیار فیزیولوژی جانوری

شهربانو عریان دانشگاه خوارزمی تهران استاد فیزیولوژی جانوری

مریم شمس لاهیجانی دانشگاه شهید بهشتی تهران استاد جنین شناسی و تکوین جانوری

محمد مرادی دانشگاه زنجان دانشیار زیست شناسی جانوری

مختار مختاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون استاد فیزیولوژی جانوری

هیات اجرایی :

مدیر داخلی : **شهرزاد نصیری سمنانی**

ویراستار علمی : **احمد مجد**

ویراستار انگلیسی : **سعید آریان**

ویراستار ادبی: **تورج عقدایی**

ویراستار استنادی : **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.

اسامی‌نویسندگان در زیر عنوان مقاله آورده شود. نشانی کامل محل کار نویسندگان، با ذکر شماره در زیر اسامی‌نویسندگان 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 کلیدیدر 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 12×8 سانتی متر بزرگ‌تر نباشد. عکس‌ها به صورت فایل‌های مجزا و با کیفیت مناسب جهت چاپ با نام‌های مشخص روی CDضبط 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 مقدور 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 12×8 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 .، مهداد، 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 18-1.

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 می‌آید. 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 کم‌تر از 5 و بیش از 15 صفحه نباشد و با نرم افزار Word2007 تایپ شود. ارسال CD الزامی‌است.

چ- مسئولیت صحت و سقم مطالب هر مقاله بر عهده نویسنده (نویسندگان) آن خواهد بود. ضمناً اسامی‌نویسندگان مقاله (اولویت قرار گرفتن و یا 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 می‌دارد. 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 تائید مقاله ضمن اعلام به نویسنده، جهت داوری ارسال می‌گردد.

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 علمی‌و محل اشتغال آن‌ها 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 می‌شود و در صورت تایید نهایی مقاله ضمن اعلام به نویسنده، در نوبت چاپ قرار می‌گیرد.

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

فهرست مطالب

◄ **بررسی ارتباط بین اثر پیش‌شرطی‌سازی هایپراکسی متناوب بر سطح پروتئین مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 و میزان حجم سکته مغزی در مدل سکته 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 برپارامترهای خونی و بافت طحال درموش سفید(آلبینو) نر.....23**

نسیم نعیمی، حمیدرضا عادلی، کبری زارع

بررسی اثر عصاره آبی ـ الکلی لعل کوهستان(*Oliveria decumbens*) بر فاکتورهای عملکردی و تغییرات بافتی کلیه موش صحرایی نر بالغ تحت مسمومیت با کلریدکادمیم 33

مریم رحیمی کازرونی، **مختار مختاری**، مهرداد شریعتی، سمیه رحیمی کازرونی

◄ **بررسی اثر عصاره الکلی برگ کرفس کوهی(*Kellussia odoratissma*) و ویتامین B12 برمیزان شاخص‌های التهابی در موش صحرایی مبتلا به انسفالومیلیت آلرژیک تجربی.....43**

اکبر کریمی، مجید گوروئی

◄ **بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی برگ گیاه آلوئه ورا بر تکثیر سلول‌های سرطانی دهانه رحم(Hela)....51**

الهه ابراهیمی، **مسعود پارسانیا**، حمید حسینی دوست

◄ **بررسی برهم کنش سیستم دوپامینیD1 پوسته آکومبنس و سیستم گلوتاماتی ناحیه پری لیمبیک بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های صحرایی 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 صحرایی نر نژاد اسپیرال.....75**

محسن اجلی، حسین حمزه‌ای، پریوش قادری نیا، **حامد علیزاده**

فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 29، جلد 8، شماره 2، بهار 94، صفحه 1 تا 11

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

اکرام محمدی[1]، **محمدرضا بیگدلی[2]**

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 بیان مبادله‌گر سدیم-کلسیم 1 را افزایش می‌دهد. هدف از این تحقیق، تعیین رابطه اثر HO بر مبادله‌گر سدیم- کلسیم1(NCX1، Na+/Ca2+ Exchanger1) و حجم ایسکمی (Infarct Volume:IV) در مدل جانوری سکته 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 دست نخورده 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 تائیدکننده یک نقش نوروپروتکتیو برای NCX1 در تولید محافظت به ایسکمی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مبادله‌گر سدیم- کلسیم1، هایپراکسی، ایسکمی مغزی، محافظت عصبی، حجم سکته.

مقدمه

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 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

اساسی در سلول‌های زنده است و به آن‌ها اجازه می‌دهد که در معرض استرس دوام پیدا نمایند(21). گزارش شده که پیش‌شرطی‌سازی به ایسکمی مغزی از طریق القائ ایسکمی زیر حد کشنده بعد از 1 تا 7 روز خون‌رسانی مجدد، نورون‌ها را از آسیب ناشی از دوره‌های ایسکمی طولانی‌تر بعدی محافظت می‌کند، حالتی که به طور طبیعی نورون‌های CA1 هیپوکامپ را از بین می‌برد(27). هم‌چنین گزارشات نشان داده‌اند که پیش‌شرطی‌سازی توسط Sevoflurane، آپوپتوز القا شده توسط ایسکمی را حداکثر تا 7 روز پس از آسیب ایسکمی کاهش می‌دهد 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 می‌تواند باعث القا IT شده و در مقابل آسیب مغزی و بیماری‌های تخریب‌کننده نورونی محافظت ایجاد نماید(3). مشخص گردیده که IT القا شده توسط HO، حجم سکته، امتیاز نقص نورولوژیکNDS(neuro deficit score)، ادم مغزی و نفوذ پذیری سد خونی مغزی را کاهش می‌دهد(5). اثر نوروپروتکتیو القا شده توسط HO(hyperoxia) پاسخ‌های سازشی ویژه‌ای را ایجاد می‌کند که شامل تعدادی تغییرات سلولی و بیوشیمیایی، از جمله هموستازی متابولیک و برنامه‌ریزی ژنی می‌باشد. تغییرات در مسیرهای متابولیک عموماً عمر کوتاه داشته و برگشت‌پذیرند در حالی که بیان ژنی که به دنبال آن رخ می‌دهد یک پروسه دوام‌دار بوده و ممکن است در نهایت منجر به تغییرات دایمی در الگوی بیان ژنی شوند(3). ممکن است القا و حفظ IT مغز توسط تغییرات در بیان میانجی‌های مختلف، شامل گیرنده‌های NMDA(N-methyl-Dasparticacid)(10)، فاکتورهای آنتی‌آپوپتوتیک(28)، اینترلوکین1(22، 21) رادیکال‌های آزاد اکسیژن(26)، فاکتور هسته‌ای کاپا(4) و 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 مهم‌ترین مکانیسم‌های سلولی برای خروج کلسیم می‌باشد(6). در واقع NCX(Na$^+$/Ca^{2+} Exchanger) یک آنتی‌پورتر غشایی است که کلسیم را از سلول بیرون می‌کند و از انرژی ذخیره شده در شیب الکتروشیمیایی سدیم استفاده می‌کند، بدین طریق که سدیم بر اساس گرادیان خود از غشای پلاسمایی وارد می‌شود تا با یون کلسیم به صورت کونترترانسپورت مبادله گردد. NCX یک یون کلسیم را در ازای ورود 3 یون سدیم خارج می‌کند(30). این مبادله‌گر به طور معمول در غشای پلاسمایی، میتوکندری، شبکه اندوپلاسمایی سلول‌های تحریکی یافت می‌شود(24، 11). سه ایزوفرم متفاوتNCX1 (NCX، NCX2 و NCX3) با ژن‌های مجزا در پستانداران کد می‌شوند(20، 19، 13) و از نظر خصوصیات بیوفیزیکی مشترک هستند اما حساسیت‌های متفاوتی به سطوح ATP دارند و به طور متفاوت در دوران تکوینی و افراد بالغ بیان می'گردند(30، 23، 16). در مطالعه‌ای دریافتند که با به کارگیری آنتی‌سنس‌های اولیگو دئوکسی‌نوکلئوتید بر علیه محصول ژنی NCX1، آسیب ایسکمی و نقص نورولوژیک شدیدتری ایجاد می‌شود. 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 می‌گردد(25). اخیراً نشان داده شده است که پیش‌شرطی‌سازی توسط هایپراکسی متناوب(InHO, Intermittent hyperoxia)، بیان انتقال‌دهنده‌های گلوتامات(glutamate transporters)، EAATs (Excitatory Amino-Acid Transporters)، آنزیم

تبدیل کننده تومور نکروزیز فاکتورα(Tumor Necrosis Factor α)، فاکتور هسته‌ای کاپا(NFkB)(6، 3) و مبادله‌گر سدیم-کلسیم1(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 سکته مغزی در مدل سکته مغزی رت است.

مواد و روش‌ها

مدل جانوری و گروه‌بندی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی (Rat)، نژاد اسپیراگو- دالی(-Dawley Sperague) در محدوده وزنی 350-250 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 2±24 درجه سانتی‌گراد، 12 ساعت تاریکی، 12ساعت 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 زیر گروهO(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 سکته 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 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 21درصد) طبق دوره-های ذکر شده قرار گرفت. 2، 5، 10، 15 روز بعد از تیمار، زیر گروه‌های MCAO(O-HO و O-RA) به مدت 60 دقیقه در معرض جراحی MCAO قرار گرفتند. 24 ساعت پس از خون‌رسانی مجدد، حجم سکته 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× 350×450 میلی‌متر) به طور کامل گرفته و یک مجرای ورودی و یک مجرای خروجی هوا دارد. ماده‌ی سودا لایم(Soda Lime)(جاذب دی اکسیدکربن) در داخل جعبه قرار گرفت تا دی‌اکسیدکربن 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 جعبهٔ هوا متصل شد. توسط اکسیژن متر که دارای الکترود حس‌گر اکسیژن است، میزان غلظت اکسیژن و

هم‌چنین دما(با میانگین 25 درجه سانتی‌گراد) اندازه-گیری شد.

ایسکمی موضعی مغزی (MCAO)

رت‌ها بعد از توزین، با داروی کلرات هیدرات(مرک آلمان) به میزان 400 میلی گرم 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 پتریگوپالاتین 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 میلی متر طول نخ از تنه ECA مشخص گردید. بعد از 60 دقیقه ایسکمی، برقراری مجدد جریان خون صورت گرفت. دمای بدن از طریق رکتوم اندازه گیری و در حدود 37 درجه سانتی‌گراد حفظ شد.

ارزیابی حجم آسیب بافتی ناشی از سکته 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 2، 3، 5 تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) (مرک، آلمان) در دمای 37 درجه سانتی‌گراد برای رنگ‌آمیزی حیاتی در آون 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 عکس‌برداری شد(شکل 1).

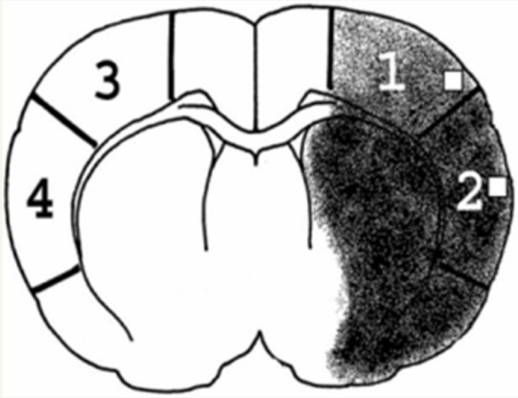
شکل 1- برش‌های مغزی رنگ‌آمیزی شده با TTC(2، 3، 5 تری فنیل تترازولیوم کلراید **)، در گروه‌های مختلف که در معرض انسداد شریان میانی مغزی** (MCAO) **قرار گرفته بودند.**

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

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 بافرحاوی 0/025 گرم سدیم دئوکسی کولات، NaCl0/08 ، 0/01 گرم SDS، 0/003 گرم EDTA، یک قرص مهارکننده‌ی پروتئاز (Rosh)، تریس- اسید هیدروکلرید با pH 7 در 20 درجه سانتی‌گراد هموژن شدند.



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 وسترن‌بلات

هموژن محتوی 60 میکروگرم از پروتئین کل، از نیمکره راست مغزی زیرگروه‌های(گروه شم(S)، هایپراکسی(I-HO) و RA(O-RA)) به همراه پروتئین(Ladder) بارگذاری شدند و پروتئین‌ها بر اساس اندازه‌شان در ژل SDS-PAGE(الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید)(90 میلی آمپر) از هم جدا شدند. پروتئین‌ها به کاغذ PVDF(Poly Vinyli Dene Fluoride) منتقل شدند. کاغذها در محلول بلاکینگ (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 اکتین (1 : 1000) (Santa Cruz) انکوبه شدند. سپس کاغذها با آنتی‌بادی ثانویه (antirabbit)(1 : 10000) (Dakocytomation), Denmark و آنتی‌موس (1:2000) (ab6728, Abcam) به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگه داشته شدند. پروتئین‌های مورد نظر که با آنتی‌بادی اولیه اختصاصی خود شناسایی شده بودند با

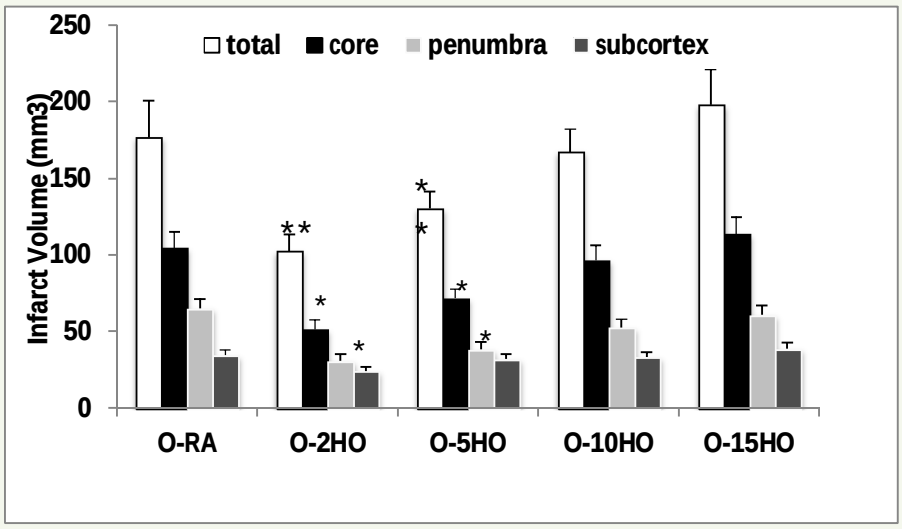
استفاده از کیت کیمولومینسانس (Enhanced Chemiluminescence, Amersham Biosciences) بر روی فیلم عکاسی آشکار شدند. پس از اسکن کردن و انتقال تصاویر فیلم‌ها به کامپیوتر، دانسیته باندهای پروتئینی توسط نرم‌افزار image j مورد ارزیابی قرار گرفت.

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 داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار نمایش داده شد. ارتباط بین سطح پروتئین NCX1 و حجم ایسکمی (IV) مغزی با استفاده از آزمون Correlation Pearson اندازه‌گیری و P≤0/05 از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

پیش‌شرطی‌سازی با HO باعث کاهش IV در تمامی نواحی مغزی، 2 روز پس از آخرین تیمار می‌شود. این اثر افزایش یافته به تدریج تا 15 روز پس از آخرین تیمار از بین رفته و به حد کنترل باز می‌گردد. تغیرات IV، در 2، 5، 10 و 15 روز پس از آخرین تیمار در نمودار1 به تصویر کشیده شده است.



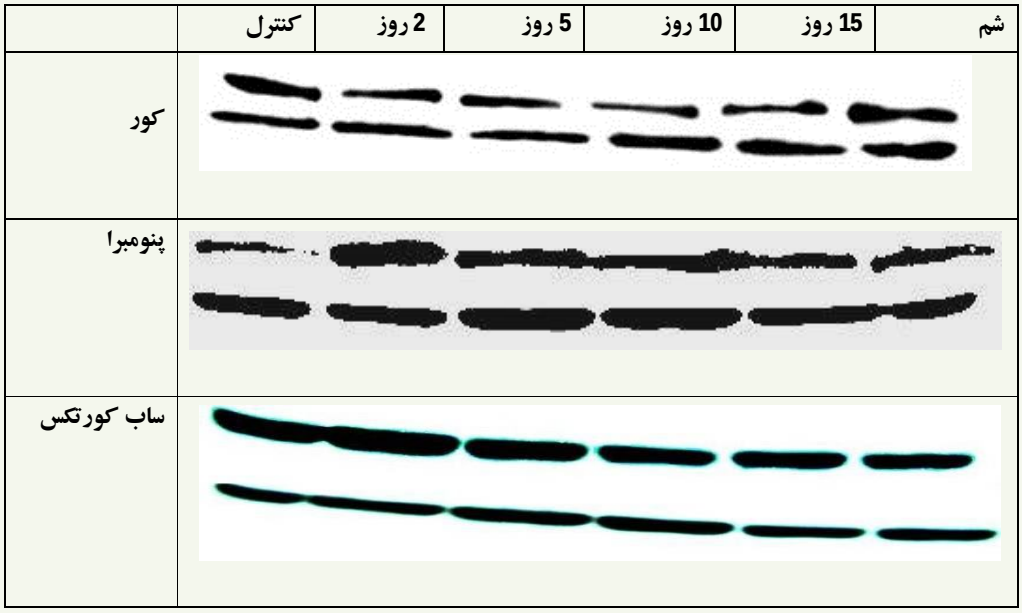
نمودار1- اثر هایپراکسی بر میزان حجم آسیب بافتی ناشی از ایسکمی در کل نیمکره راست پس از اعمال مدل ایسکمی MCAO.
در گروه کنترل (O-RA) و گروه هایپراکسی(HO) در فواصل زمانی 2، 5، 10 و 15 روز پس از آخرین تیمار نشان داده می‌شود. مقادیر نشان داده شده معرف mean±SEM می‌باشد. P< 0/01 **، p ≤0/05 * اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

پیش‌شرطی‌سازی با HO باعث افزایش بیان NCX1 در نواحی پنومبرا و ساب‌کورتکس، 2روز پس از آخرین تیمار می‌شود. این اثر افزایش یافته به تدریج تا 15 روز پس از آخرین تیمار از بین رفته و به حد کنترل باز می‌گردد. بیان NCX1 در ناحیه کور 2 روز پس از هایپراکسی در مقایسه با گروه کنترل، تغییر معناداری نداشت(شکل3). ارتباط بین روند تغییرات IV و پروتئین NCX1 در نواحی کور، پنومبرا و ساب-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). رابطه‌ی معناداری بین تغییرات IV و NCX1 در ناحیه پنومبرا و ساب-کورتکس وجود دارد(penumbra; P=0/05) (subcortex; P=0/001).

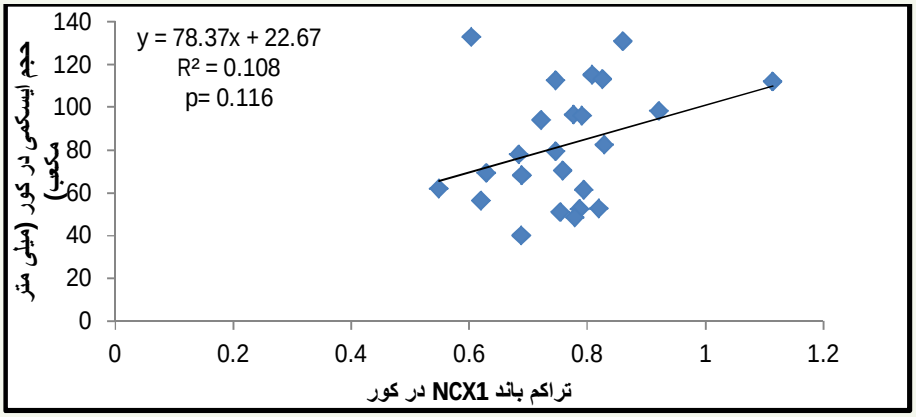
بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات قبلی نشان داد که هایپراکسی متناوب که IT را القا می‌کند، نقش مهمی در کاهش NDS، حجم سکته، ادم مغزی و نفوذپذیری سد خونی‌مغزی دارد (5). هم‌چنین 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 تبدیل‌کننده‌ی TNF-α می‌شود(8). نتایج این کار تحقیقی نیز نشان داد که پیش‌شرطی‌سازی با HO، حجم سکته راکاهش داده و باعث افزایش بیان NCX1، دو روز پس از اعمال آخرین تیمار، در اکثر نواحی مغزی (پنومبرا و ساب‌کورتکس) در رت گردیده است. این اثر افزایش یافته به تدریج تا 15 روز پس از آخرین تیمار به حالت کنترل بازگشت می‌کند. پیش‌شرطی‌سازی هایپراکسی بر بیان پروتئین NCX1 در ناحیه کور اثر افزایشی نداشت. یافته‌های ما تایید می‌کنند که NCX1 نقش محافظ عصبی در مغز دارد و باعث ایجاد IT در مغز می‌گردد. در واقع، مهار فارماکولوژیکی NCX منجر به آسیب شدید سلولی می‌شود 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 سین‌ترانسپورتر گلوتامات رخ می‌دهد(31، 2). همچنین نشان داده شده است که به کارگیری ODNS(Oligo Deoxy Nucleotides) برعلیه محصولات ژنی NCX1 آسیب ایسکمی و نقص نورولوژیک شدیدتری را ایجاد می‌کند(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 سلول‌های این ناحیه اثر گذاشته و باعث افزایش تولید پروتئین NCX1 در فاصله 2روز پس از اعمال آخرین تیمار شده است(18). با توجه به این که هیچ تفاوت چشمگیری بین زیرگروه‌های شم و کنترل وجود ندارد، می‌توان گفت که پیش‌شرطی‌سازی با HO، حجم سکته را با افزایش بیان نوروپروتکتیوهایی هم‌چون NCX1 کاهش می‌دهد. طبق یافته‌های 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 می‌گردد، به عبارتی هایپراکسی اثر خود را در این فاصله 15 روز از دست می‌دهد، 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 ساب‌کورتکس می‌گردد و تا 15 روز پس از اعمال آخرین تیمار، حجم ایسکمی به سطح کنترل بازگشته و افزایش می‌یابد. رابطه معنی‌داری بین روند تغییرات NCX1 و حجم ایسکمی در نواحی پنومبرا و ساب‌کورتکس 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 ساب‌کورتکس 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 نورونی، مود برعکس(Reverse Mood) NCX باعث ورود بیش از اندازه کلسیم و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی می‌شود. این حالت می‌تواند برای نورون‌ها مفید باشد، زیرا این حالت متعاقباً باعث کاهش بار سدیم داخل سلولی می‌گردد و

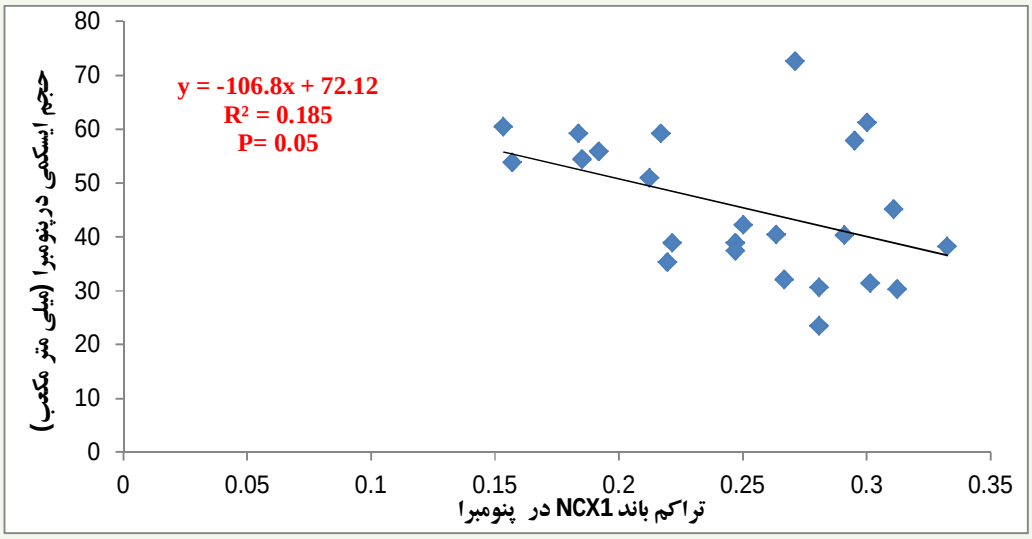
از تورم و مرگ سلولی جلوگیری به عمل می‌آورد(7). کلسیم سلول بیش از اندازه زیاد شد، NCX در حالت forward(Forward Mood) خود وارد عمل شده و باعث کاهش کلسیم داخل سلولی می‌گردد. از این‌رو نورون‌ها را از "سمیت سلولی القا شده توسط کلسیم" محافظت می‌کند (1). در مجموع، داده‌های ما پیشنهاد می‌کند که تغییر بیان NCX1 در پیش‌شرطی‌سازی هایپراکسی می‌تواند روی مکانیسم محافظت عصبی اثر از طرف دیگر، در فاز تاخیری آنوکسی نورونی؛ وقتی بگذارد، ازاین‌رو کاربرد مهمی در پاتوژنی سکته 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 سکته و یا کسانی که خون‌رسانی مغزشان کاهش یافته است(حین جراحی) توسعه یابد.



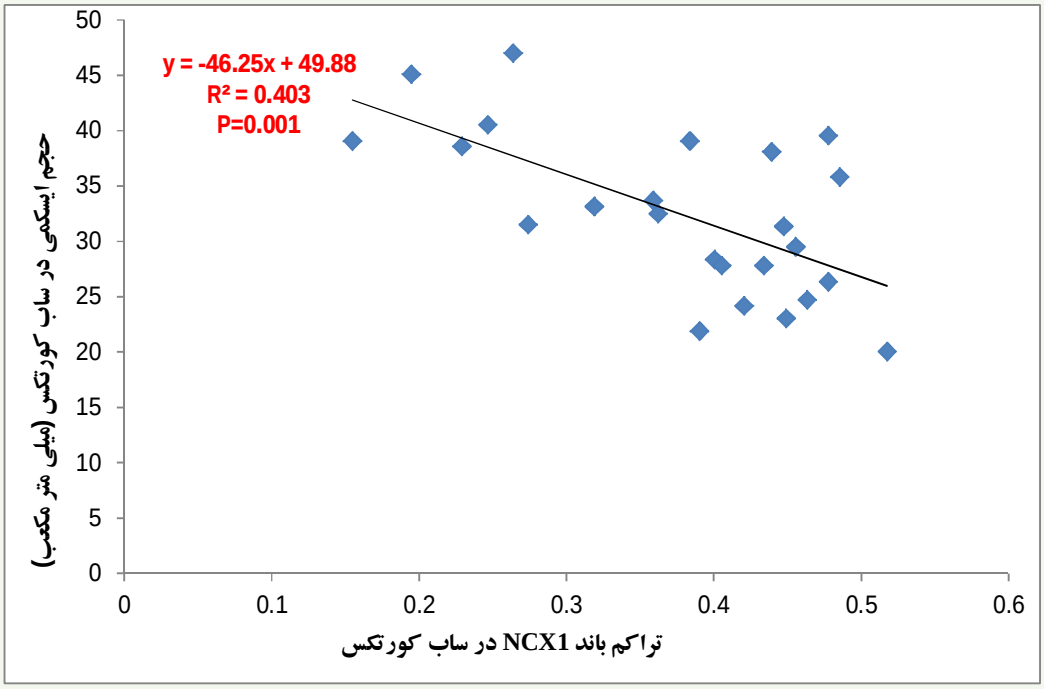
شکل3- اثر پیش‌شرطی‌سازی هایپراکسی بر بیان پروتئین NCX3 در نواحی کور، پنومبرا و ساب کورتکس مغزی در گروه‌های مورد مطالعه.



نمودار2-تغییرات بین حجم سکته مغزی و دانسیته پروتئین NCX1 در ناحیه کور مغزی، 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار با هایپراکسی، تغییرات فاقد ارتباط معنی‌دار می باشد (P=0/0116).



نمودار3- رابطه معکوس بین حجم سکته مغزی و دانسیته پروتئین NCX1 در ناحیه پنومبرای مغزی، 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار با هایپراکسی. ارتباط معنی داری (R2=0/05 p= 0/185 ,) بین کاهش سطح بیان NCX1 و افزایش حجم سکته(0/329- =Pearson Correlation) وجود دارد.



نمودار4- رابطه معکوس بین حجم سکته مغزی و دانسیته پروتئین NCX1 در ناحیه ساب کورتکس مغزی، 2، 5، 10 و 15 روز پس از تیمار با هایپراکسی. ارتباط معنی داری (R2= 0 /403, p=0 /001) بین کاهش سطح بیان NCX1 و افزایش حجم سکته(0/635- =Pearson Correlation) 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., Rasoulian, 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., Rasoulian, 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. Konstas, AA., Goldmakher, GV., Lee, T.Y., Lev, MH. (2009). The oretic 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^{+}/Ca^{2+} 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^{+}/Ca^{2+} 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/CFa 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^{+}/Ca^{2+} exchanger. Science, 250(4980); 562-565.

20. Nicoll, D.A., Quednau, B.D., Qui, Z., Xia, Y.R., Lusis, A.J., Philipson, K.D. (1996). Cloning of a third mammalian Na^{+}/Ca^{2+} 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 Na^+/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., Krieglstein, J.l. (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 Na^+/Ca^{2+} exchanger isoforms in rat brain. Molecular Brain Research, 50 (1-2); 285-292.

31. Yu, S.P., Choi, D.W. (1997). Na^+/Ca^{2+} Exchange currents in cortical neurons: concomitant forward and reverse operation and effect of glutamate. European Journal of Neuroscience, 9(6); 1273-1281.